



Revue Francophone des Laboratoires



Volume 2016, Issue 476,
Pages 3-90
December 2016

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](http://www.lemondepharmaciens.com)

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/lemondepharmaciens)

 [#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
65, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax : 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

**DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES,
RÉDACTRICE EN CHEF :**
Yasmina Ouharzoune
y.ouharzoune@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :
Claude Naudin
claudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :
Revue de presse :
Joël Gozlan, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès,
Vincent Maréchal, Michel Segondy
Actualités — Santé publique — Veille juridique :
Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING – RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Sonia Tadjdet (58 60)
s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ – RESPONSABLE DE PUBLICITÉ :
Nicolas Zarjevski (51 38)
Mobile : 06 14 68 51 26
n.zarjevski@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :

Tél. : 01 71 16 55 99 – Fax : 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom, 48 rue de Dantzig, 75015 Paris.

IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright© 2016 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F – 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

PASIEKA/SPL/PHANIE
Dépôt légal : à parution

Couverture
© NIAID / BSIP

Index des annonceurs

Abbott	2 ^e de couv
Biorad	4 ^e de couv
Elitech	11
Elsevier Masson	4 - 7 - 22 - 34

édito

Tous pédiatres

Les besoins de santé de l'enfant (0 à 18 ans) augmentent, le nombre de pédiatres libéraux régresse, or la loi de santé exige un médecin référent généraliste ou pédiatre pour l'enfant dès la naissance. L'Académie de médecine suggère donc que l'on forme les généralistes à la pédiatrie.

La pédiatrie s'est élargie au-delà des infections : néonatalogie, prématurés, urgence en CHU ou CHG, prévention (vaccinations), troubles nutritionnels (obésité, diabète), maladies génétiques, maladies chroniques, problèmes scolaires (troubles d'apprentissage), troubles de l'adolescence (addictions, comportement), pédochirurgie, pédopsychiatrie.

Si le nombre de pédiatres a augmenté en 20 ans celui des pédiatres libéraux ambulatoires régresse depuis 1995. En 2012 on comptait, 7 450 pédiatres dont 2 547 libéraux. La pédiatrie libérale européenne moyenne est de 1/2 094 (1/800 en Italie) et d'environ 1/2 000 aux USA. Nombre de villes n'ont plus de pédiatres libéraux. Avec 1 pédiatre libéral pour 5 300 enfants la France a l'une des plus faibles couvertures d'Europe, seul 1 enfant sur 5 accède à un pédiatre libéral : plus de 80 % des enfants de 2 à 18 ans suivis à la place par un généraliste. Les libéraux ne peuvent pas tous répondre à l'obligation d'un médecin référent, d'où l'importance de formation du futur généraliste à la pédiatrie.

Aux pédiatres, l'Académie propose d'enseigner les maladies chroniques : mucoviscidose, myopathies, trisomie 21, obésité, diabète, maladies métaboliques héréditaires, retard de développement, trouble de l'apprentissage et du comportement, addictions, handicap... Et la biologie de l'enfant ?

Aux généralistes, l'Académie suggère des stages en Pôle Mère-Enfant, en pédiatrie, gynécologie, PMI, planning familial, l'enseignement de la pédiatrie ambulatoire en faisant participer à l'enseignement les pédiatres libéraux, les CHG et les PMI.

La pédiatrie suit 14 millions d'enfants (22 % de la population) issus de 800 000 naissances par an.

RFL

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (Paris).

BUREAU : Bruno BAUDIN (Paris), Dominique CHABASSE (Angers), Alain CHEVAILLER (Angers), Éric GARNOTEL (Marseille), Michèle IMBERT (Créteil), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (Angers), Marc MAYNADIÉ (Dijon), Michel SEGONDY (Montpellier).

COMITÉ :

MEMBRES FRANÇAIS : Frédéric BARBUT (Paris), Patrice BOURÉE (Le Kremlin-Bicêtre), Claude GUIGUEN (Rennes), Paul HOFMAN (Nice), François JEHL (Strasbourg), Saïd KAMEL (Amiens), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (Lyon), Jean-Jacques LATAILLADE (Clamart), Jean-Philippe LAVIGNE (Nîmes), Jérôme LE GOFF (Paris), Michèle MALET (Caen), Vincent MARÉCHAL (Paris), Denis MASSIGNON (Lyon), Thierry MOLINA (Paris), Valérie UGO (Angers).

MEMBRES ÉTRANGERS : Smail BELAZZOUG (Algérie), Ahcène DEMBRI (Algérie), Hicham OUAZZANI (Maroc), Lassaad SARRAI (Tunisie), Abderrahim TAZI (Maroc).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (Toulouse), René CHERMETTE (Maisons-Alfort), Jean-Louis KOECK (Bordeaux), Anne-Marie MANEL (Champagne-au-Mont-d'Or), Jean-Claude NICOLAS (Chatou/Princeton, USA), Martine TIROUCHE †, Michel VAUBOURDOLLE (Paris).

EMA et PrEP : feu vert pour l'Union européenne

L'Agence européenne des médicaments (EMA) a officiellement recommandé, cet été pour l'Union européenne, le premier traitement prophylactique pré-exposition (PrEP) en tant que prévention de la transmission du VIH.

La décision de l'EMA, concernant l'association emtricitabine/tenofovir disoproxil (Truvada®, Gilead Sciences International) est une autorisation de mise sur le marché (*marketing authorization*, AMM en France) dans l'Union européenne, recommandée en association avec des pratiques sexuelles prudentes (*safer sex practices*) pour réduire le risque d'IST à VIH-1 chez l'adulte à haut risque. La PrEP est recommandée aux sujets non porteurs du VIH mais considérés comme à haut risque d'infection pour leur donner la possibilité de minorer leur risque de contamination en cas d'exposition au virus. Rappelons que Truvada® est le premier

médicament recommandé pour la réduction de ce risque dans les pays de l'Union européenne et pays affiliés. Il constitue une partie de la stratégie globale de prévention de l'infection à VIH, souligne l'EMA, qui comporte également l'usage du préservatif, qui constitue non seulement une protection contre le VIH mais aussi contre d'autres IST.

Ce n'est pas le Truvada® qui est nouveau, c'est l'autorisation de l'utiliser dans cette stratégie de prévention de l'infection à VIH, car ce traitement est autorisé dans l'Union européenne depuis 2005 comme traitement de l'infection à VIH associé à d'autres molécules antirétrovirales (trithérapie).

La Commission des produits médicaux à usage humain (CHMP) de l'EMA a donné son feu vert sur la base de 2 études qui ont montré une réduction substantielle du risque d'infection à VIH-1 lors de l'usage de Truvada® comme PrEP. Dans l'étude *iPrEx* la PrEP contre placebo a réduit le risque d'infection de 42 % chez 2 499 hommes

VIH-négatifs et femmes *transgenres* ayant des relations avec des hommes (HSH) et considérés à haut risque d'infection. Dans l'étude *Partners PrEP* la PrEP contre tenofovir seul ou placebo a réduit le risque d'infection de 75 % chez les partenaires hétérosexuels d'hommes et de femmes VIH-positifs, l'étude réunissant 4 758 couples hétérosexuels sérodiscordants. Les deux études ont montré que meilleure était l'observance quotidienne du traitement meilleure était l'efficacité de la PrEP. Les effets secondaires signalés étaient similaires à ceux de Truvada® utilisé dans le traitement de la séropositivité : diarrhée, nausées, asthénie...

La décision de la CHMP a été transmise à la Commission européenne pour approbation de l'AMM de la PrEP. Ce sera ensuite à chaque État-membre et affiliés de fixer les règles d'usage et... le prix. ■■

J.-M. M.

Source : EMA, Londres. www.ema.europa.eu

L'OMS croit à la génération sans sida en 2030

L'Organisation mondiale de la Santé a félicité la Thaïlande et le Belarus pour avoir éliminé la transmission mère-enfant du VIH et de la syphilis, ainsi que l'Arménie et la Moldavie pour avoir respectivement éliminé la transmission mère-enfant du VIH et celle de la syphilis.



« En veillant à ce que les enfants naissent en bonne santé, on leur donne le meilleur départ possible dans la vie. C'est extrêmement encourageant de voir que des pays réussissent à éliminer la transmission de la mère à l'enfant de ces deux infections », a déclaré le Dr Margaret Chan, directeur général de l'OMS, c'est un énorme succès et un signal fort indiquant clairement que le monde s'achemine vers une génération sans sida : « *a clear signal that the world is on the way to an AIDS-free generation* ». L'élimination de la transmission mère-enfant du VIH et de la syphilis est cruciale dans les efforts pour combattre les infections sexuellement transmissibles et venir à bout du sida d'ici à 2030.

En 2014, l'OMS et ses partenaires ont élaboré des critères mondiaux pour valider

l'élimination de ces deux infections par un suivi étroit des progrès de chaque pays. L'an dernier, Cuba a été le premier pays ayant obtenu la validation de l'élimination de la transmission mère-enfant du VIH et de la syphilis.

L'OMS reconnaît les résultats remarquables de la Thaïlande, de l'Arménie, du Belarus et de la Moldavie. Ces pays ont travaillé dur pour garantir l'accès précoce aux soins prénatals, au dépistage du VIH et de la syphilis des femmes enceintes et leurs partenaires et au traitement des femmes séropositives, ainsi que de leurs enfants. La diffusion des informations sur la *santé reproductive*, l'engagement des communautés et les activités de proximité auprès des populations marginalisées, en respectant les droits fondamentaux de la

personne et l'égalité entre les sexes [thèmes d'un récent congrès mondial du sida] ont contribué à faciliter cet accès. Pour l'OMS, ces avancées sanitaires témoignent d'un facteur essentiel, l'intégration des services travaillant dans plusieurs domaines : santé de la femme et de l'enfant, santé sexuelle et reproductive et VIH. L'intégration suppose de nouvelles stratégies du secteur de la santé élaborées par l'OMS pour le VIH, les infections sexuellement transmissibles et les hépatites virales ; elle est fondamentale pour atteindre la couverture sanitaire universelle, et les objectifs de développement durable. ■■

J.-M. M.

Source : OMS, Genève. www.who.int

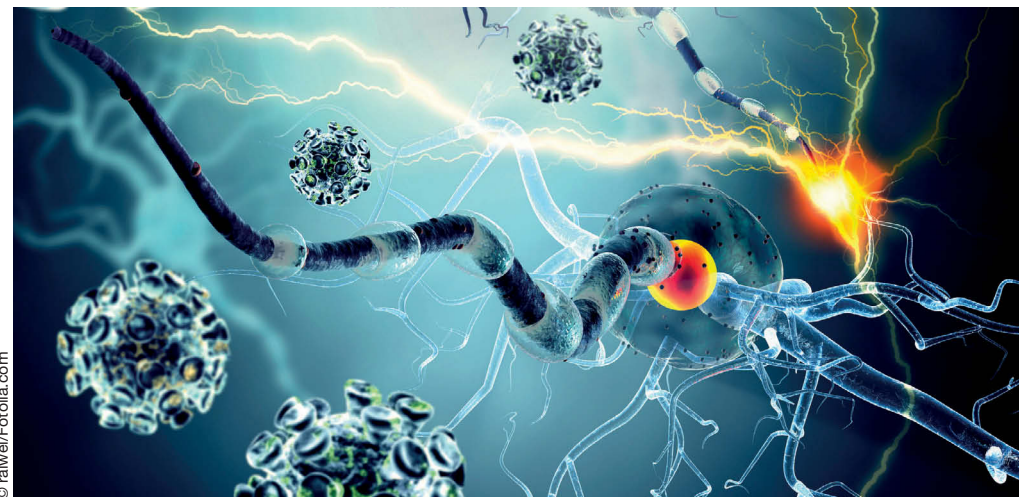
Maladie de Parkinson : un traitement original à l'essai

Un essai clinique de phase 1 [chez le volontaire sain] d'un traitement-candidat original de la maladie de Parkinson s'est achevé de façon optimale. Le PXT002331, modulateur allostérique positif mGluR4, a confirmé sa sécurité et sa tolérance, à des doses comparativement supérieures à celles testées sur des modèles animaux de Parkinson lors des essais précliniques.

Développée par la biopharma suisse Prexton Therapeutics (Genève), la molécule a été testée chez 64 volontaires sains à différentes posologies. La phase 1 donne des informations pharmacologiques essentielles. La phase 2 sera encore plus importante : prévue au premier semestre de 2017, elle concernera des patients porteurs de la maladie de Parkinson.

Prexton Therapeutics, spécialisé dans le développement de molécules biothérapeutiques en neurologie, est la première biopharma à entamer un essai clinique chez l'Homme d'un modulateur allostérique positif de type 4 (mGluR4), son produit-phare. Les études randomisées de phase 1, en double aveugle *versus* placebo, à dose unique et à doses croissantes, visaient à évaluer l'innocuité et la tolérance de PXT002331 administré *per os*.

Pour François Conquet, président fondateur de Prexton Therapeutics, il s'agit d'une étape majeure dans le développement de cette molécule pour le traitement



de la maladie de Parkinson. Cette molécule originale vient stimuler un système neuronal compensatoire qui n'est pas touché par la maladie. Dans cette indication, on sait que les concurrents de Prexton ciblent généralement le système dopaminergique, ce qui ne permet pas de traiter tous les symptômes. Par ailleurs, cette approche entraîne un certain nombre d'effets secondaires.

La molécule développée par Prexton active une cible spécifique du système glutamatergique, pour obtenir un effet thérapeutique important sans déclencher d'effets secondaires. Ce traitement, le premier de sa classe thérapeutique, pourrait offrir aux patients parkinsoniens un meilleur rapport bénéfice/risque que ces traitements classiques, qui dominent le marché pharmaceutique actuel.

Prexton prévoit de développer une nouvelle classe de molécules ciblant le récepteur metabotropique du glutamate mGluR4, protéine de la famille des récepteurs metabotropiques du glutamate. Les données précliniques ont montré l'activité positive de la molécule, qui pourrait atténuer ou résoudre les problèmes moteurs de la maladie par modulation du glutamate en fonction de l'activité du SNC des patients. Dans le monde, la maladie de Parkinson touche 10 dix millions de personnes et 200 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année, note Prexton, son incidence augmente avec le vieillissement de la population. ■■

J.-M. M.

Source: Prexton Therapeutics.
www.prextontherapeutics.com

Greffes et réaction du greffon contre l'hôte : un médicament orphelin

La Commission européenne vient d'accorder le label de médicament orphelin [le seul dans sa classe thérapeutique pour le moment] à l'ALXN1007 du Laboratoire Alexion Pharmaceuticals, pour le traitement de patients éprouvant la réaction du greffon contre l'hôte ou *graft versus host disease*/GVHD, dans laquelle c'est le greffon qui déclenche la réaction immunitaire contre le patient transplanté.

L'ALXN1007 est un anticorps monoclonal doté d'une activité anti-inflammatoire, molécule innovante d'Alexion (New Haven,

Connecticut) dont la cible est la protéine du complément C5a, destiné à soulager les effets indésirables de la GVHD.

Alexion étudie l'ALXN1007 chez des patients victimes de la réaction aiguë du greffon contre l'hôte au niveau du tractus gastro-intestinal inférieur, considérée comme une maladie auto-immune rare, grave et potentiellement létale, qui est une des complications post-greffe de cellules souches ou de moelle osseuse.

« La réaction aiguë du greffon contre l'hôte au niveau du tractus gastro-intestinal inférieur

se présente comme une maladie sévère au cours de laquelle environ un tiers des patients les plus gravement atteints décèdent dans les six mois de la greffe en dépit des meilleurs traitements mis en œuvre », précise Alexion. La biopharma se félicite de l'attribution à l'ALXN1007 du label « Nous nous réjouissons qu'il ait obtenu la désignation de médicament orphelin pour l'Union Européenne. Cette désignation est aussi la reconnaissance d'un besoin médical non satisfait, en l'attente [impatiente] ici d'un traitement efficace de la GVHD, avec la perspective d'améliorer le taux de réponse positive des patients confrontés à cette réaction immunitaire. »

L'ALXN1007 est en cours d'évaluation dans un essai clinique de phase 2 chez des patients éprouvant la réaction aiguë du greffon contre l'hôte au niveau du tractus gastro-intestinal inférieur (GI-GVHD) nouvellement diagnostiquée. La GI-GVHD est une maladie à médiation immunologique qui affecte 10 à 12 % pour cent des patients ayant reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ou une greffe de moelle osseuse. La forme aiguë sévère a une létalité de 30 à 40 % dans les 6 mois de la greffe. Il existe actuellement peu d'options de traitement de la GI-GVHD.

À noter : Alexion a développé et commercialise le premier et unique inhibiteur du complément homologué pour le traitement des patients atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) ou du syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa). ■■

J.-M. M.

Source : Agence européenne des médicaments (EMA).
Des informations sur l'essai clinique l'ALXN1007 sont disponibles sur le site www.clinicaltrials.gov, identifiant NCT02245412.
Alexion : www.alexion.com



© PointImages/Fotolia.com

BRÈVES

Ebola: une malaria-connexion?



Selon une équipe du *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIH), les sujets infectés par le virus Ebola ont plus de 20 % de probabilité de survie s'ils sont porteurs de paludisme à *Plasmodium falciparum*, d'après des données collectées dans un LBM au Libéria en 2014-2015.

Plus on trouvait de parasites, plus augmentait la probabilité de survie, après vérification de la charge virale en virus Ebola et selon l'âge. Dans le LBM installé lors de l'épidémie d'Ebola (MVE) par les NIH et les CDC, l'équipe a testé 1 868 échantillons sanguins de patients potentiellement porteurs d'une MVE. Une MVE a été confirmée à partir de 1 182 échantillons, dont 956 ont été testés pour le *Plasmodium*, 185 étant positifs: 58 % des sujets doublement infectés ont survécu, contre 46 % de ceux porteurs seulement d'une MVE. Des patients porteurs de la plus haute charge en *Plasmodium*, 83 % ont survécu. À suivre.

Source: K Rosenke et coll. *Plasmodium parasitemia associated with increased survival in Ebola virus-infected patients. Clinical Infectious Diseases* DOI: 10.1093/cid/ciw452 (2016). niaidnews@niaid.nih.gov

Un traitement pour les VHC 1 et 4



La Commission européenne, sur les éléments d'information de l'Agence européenne des médicaments (EMA) a donné son feu vert pour la commercialisation de Zepatier® (Laboratoire Merck), association de grazoprevir et d'elbasvir, destinée au traitement de l'hépatite à virus C de génotypes 1 et 4. La nouvelle association peut être éventuellement associée à la ribavirine (antiviral). Zepatier® s'utilise quotidiennement, sous forme d'un comprimé contenant 100 mg de grazoprevir, inhibiteur de la protéase NS3/4A, et de 50 mg d'elbasvir, inhibiteur de la NS5A, le traitement étant prescrit pour 12 ou 16 semaines, selon le génotype visé et les antécédents thérapeutiques. Chez les patients porteurs du génotype 1a avec un ARN supérieur à 800 000 UI/mL et un polymorphisme de NS5A, un traitement de 16 semaines associant la ribavirine est recommandé. Chez les patients porteurs du génotype 4 avec un ARN supérieur à 800 000 UI/mL, même recommandation. Ce traitement sera disponible dans tous les pays de l'Union européenne et associés (Islande, Norvège, Liechtenstein).



Amniocentèse : il est temps que le DPNI la remplace

En résumé, c'est l'avis du Pr Israel Nisand (CHU de Strasbourg), président du Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF), exprimé en juin, souhaitant la généralisation et le remboursement (enfin!) du diagnostic prénatal non invasif (DPNI).

Mais ça traîne du côté du ministère de la Santé, remarquent nos gyn-obs qui, il y a 3 ans, début de 2013, expliquaient dans un communiqué attendre l'avis du Comité consultatif national d'éthique (CCNE), pour pouvoir appliquer le DPNI aux patientes à risque élevé de trisomie 21. Cet avis, délivré le 25 avril 2013, a été la réponse à la saisine du CCNE par le CNGOF « en raison des questions éthiques particulières que les évolutions techniques de ce dépistage posent et de leurs conséquences potentielles sur la conception du diagnostic prénatal et sa pratique dans notre pays ».

Le CNGOF a salué l'avis du CCNE sur « les questions éthiques associées au développement des tests génétiques fœtaux sur le sang maternel », estimant à juste raison qu'« il y donne un avis favorable à l'introduction progressive, dans le cadre du programme de dépistage de la trisomie 21, de ce diagnostic prénatal non invasif qui, par une simple prise de sang réalisée chez

la mère en début de grossesse, permet l'analyse de l'ADN fœtal »¹.

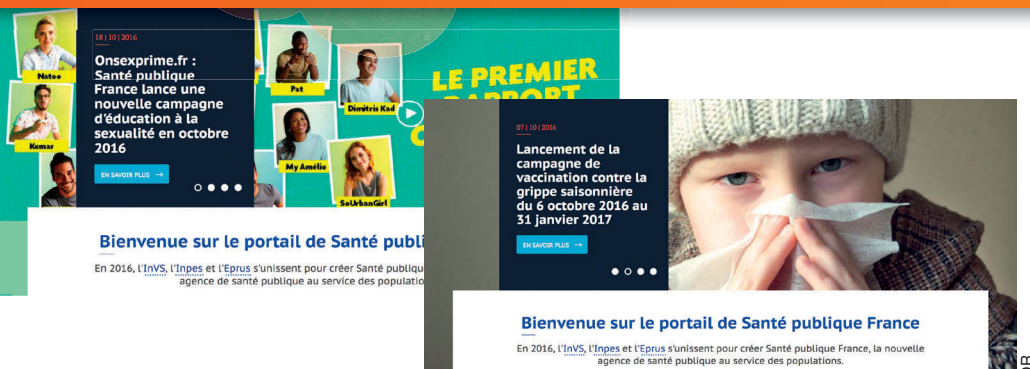
En répondant positivement, estimait alors le CNGOF, le CCNE considère que cette méthode ne modifie pas la procédure actuelle [de dépistage] mais revêtirait en revanche une importance considérable en termes de *non-malfaisance*: il s'agit en effet de réduire le nombre de prélèvements invasifs: choriocentèse et amniocentèses, dont on sait qu'ils exposent à un risque de fausse couche de l'ordre de 0,5 à 1 % [selon les séries].

Dans son communiqué d'avril 2013, le CNGOF souhaitait que la législation et la prise en charge par la solidarité nationale interviennent rapidement (!) pour que le DPNI devienne le diagnostic prénatal de référence. Il souhaitait aussi, comme le CCNE, que cette avancée diagnostique se double d'une avancée générale: recherche de traitement des maladies génétiques, prise en charge des personnes handicapées, accompagnement de leur famille, information des couples sur le DPNI. ■■

J.-M. M.

Lien: www.cngof.asso.fr

1. NDLR - La détection d'ADN fœtal (issu de passage transplacentaire) dans le sang maternel est une technique éprouvée, permettant aussi d'identifier un risque d'incompatibilité Rhésus mère/enfant.



Nouveau: l'Agence nationale de santé publique

Un décret relatif à la création de l'Agence nationale de santé publique (ANSP) est paru au Journal Officiel (9/4/2016).

L'ANSP reprend les missions de l'Institut de veille sanitaire (InVS et son BEH), de l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (INPES) et de l'Établissement de préparation et de réponse aux urgences sanitaires (EPRUS).

Quelles sont ses missions ?

- Diffuser des informations sur la santé des populations et les risques sanitaires, créer des systèmes de données scientifiques, sanitaires, démographiques, sociales, climatiques, environnementales, statistiques, de morbi-mortalité.
- Assurer la coordination de la surveillance, des études et de l'expertise en matière de lutte et de prévention contre les infections associées aux soins: infections nosocomiales, résistance aux antibiotiques.
- Détecter les facteurs de risques pour la santé de la population, élaborer des systèmes de surveillance/alerte de menaces sanitaires et de gestion des crises sanitaires.
- Étudier pour chaque risque l'état de santé des populations menacées, évaluer les inégalités sociales de santé, produire des indicateurs pour les politiques de santé.
- Mettre en œuvre les programmes de santé publique.
- Évaluer l'impact sur la santé des politiques publiques.
- Exercer la fonction d'expert en matière de promotion de la santé, de prévention et d'éducation pour la santé.
- Concevoir stratégies et actions de promotion de la santé, de prévention et d'éducation pour la santé, des supports d'information, des campagnes nationales de communication, etc.
- Établir des programmes de formation à l'éducation pour la santé.

- Développer les compétences en santé publique des professionnels de santé et le transfert des connaissances pour la promotion de la santé, de la prévention, et l'éducation pour la santé.
- Contribuer à la gestion des situations de crise et à la mise en œuvre des plans de réponse aux menaces, alertes et crises sanitaires, fournir des moyens à l'État.
- Procéder aux opérations de recrutement, formation, mobilisation et à l'affectation des réservistes sanitaires.
- Alerter sur les menaces sanitaires graves pour la santé, enquêter en lien avec les ARS et les Agences nationales de sécurité sanitaire.
- Alerter les autorités en cas de menace pour la population, proposer des mesures pour de santé publique.
- Organiser des auditions publiques sur des thèmes de santé publique.
- Contribuer à l'information, à la formation et à la diffusion d'une documentation scientifique et au débat public.
- Soutenir ou réaliser des formations, des études, des recherches et des évaluations en rapport avec ses missions ou participer à de telles actions;
- Participer à des actions et instances européennes et internationales, tels des réseaux internationaux de santé publique, y représenter la France.

L'ANSP peut demander à certains ministres de veiller à l'application de dispositions concernant la santé humaine. Elle s'appelle officiellement *Santé Publique France* (www.santepubliquefrance.fr). ■■

J.-M. M.

BRÈVES

Des marqueurs cutanés pour le SOMP

Hirsutisme et *acanthosis nigricans* peuvent être considérés comme des marqueurs cutanés faisant soupçonner un syndrome des ovaires micro-polykystiques (échographie transvaginale). Résultat: les femmes SOMP avaient une haute prévalence d'hirsutisme (53,3 % vs 31,2 % chez les témoins), d'*acanthosis nigricans* (36,9 % vs 20 %) et d'acné (61,2 % vs 40,4 %). Par ailleurs on notait hypertestostéronémie (40,7 % vs 4,3 %), dyslipidémie, BMI élevé, insulino-résistance. Conclusion: ces signes cutanés justifient une exploration métabolique.

Source: *Healio Internal Medicine*.

HTA de l'enfant, adulte hypertendu

Pré-hypertension (chiffres déjà élevés pour l'âge) et l'HTA chez l'enfant et l'ado sont déjà associées à des atteintes des organes-cibles et la trajectoire (sic) est déjà tracée vers une HTA du jeune adulte, selon un article paru dans *Hypertension* (un organe de l'*American Heart Association*). Abaisser la tension de 12 ans < 110/70. La cible < 120/80 (visée par l'essai SPRINT: *Systolic Blood Pressure Intervention Trial*) peut être atteinte chez les sujets de 18 ans et maintenue plusieurs décennies, au moins jusqu'à... 75 ans.

Source: *Falkner B, Gidding SS, et al. Is the SPRINT blood pressure treatment target of 120/80 mm Hg relevant for children? Hypertension*. 2016; doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.06.934 on line 28/3/2016



© Monkey Business/Fotolia.com

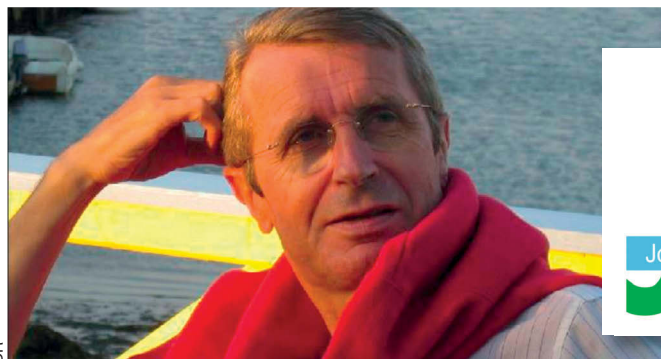
Les Journées Alain-Feuillu 2017 à Saint-Malo

Les 3^{es} Journées Alain Feuillu se tiendront au début du mois de mars 2017 hors les murs de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rennes, le vendredi 3 mars et le samedi 4 mars.

Après le succès d'estime remarqué des deux premières éditions qui se sont tenues dans cette faculté, l'Association de formation continue en biologie médicale de Bretagne et Pays de la Loire (AFCBMBPL), initiatrice de cette manifestation hommage à notre confrère, a décidé d'organiser cette troisième édition à Saint-Malo, continuant ainsi d'œuvrer respectueusement dans les pas d'Alain Feuillu.

Si l'enracinement régional de ces journées est revendiqué, leur audience se veut en revanche la plus large et la plus ouverte possible. C'est d'ailleurs dans ce but que s'est fait le choix des thématiques traitées cette année-là. Elles débordent certes du cadre stricto sensu de la biologie médicale mais ceci pour mieux aborder deux sujets d'actualité, dont l'importance n'est plus à démontrer.

Le vendredi après-midi sera consacré aux **perturbateurs endocriniens**. L'évaluation des risques liés à ces



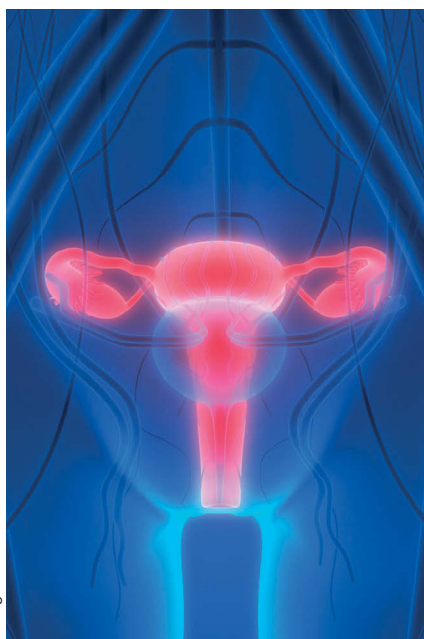
molécules est devenue un enjeu de santé publique. De nombreux programmes de recherche impliquant de grandes structures nationales et internationales ont été initiés ces dernières années. Ils visent à identifier les produits concernés, leur implication dans l'étiologie de certaines pathologies et l'élaboration de stratégies de réduction des risques encourus. Nous avons fait appel à des intervenants très impliqués dans ces programmes, bien au fait des connaissances actuelles sur les effets reconnus des perturbateurs endocriniens sur la santé. Le samedi matin sera consacré aux **microbiotes**. Ces flores microbiennes sont considérées comme un nouvel organe, dont la composition évolue avec le temps et dépend de facteurs

environnementaux et génétiques. Le rôle physiologique de ces microbiotes est largement démontré, de même que l'importance de l'implantation de certaines espèces pouvant être liée au développement de pathologies. Pour cette session, nous avons également fait appel à des intervenants très engagés dans la caractérisation et dans l'étude du rôle métabolique que tiennent ces microbiotes et des liens qu'ils entretiennent avec diverses maladies. ■■

Dr Jean François Dézier
Président de l'AFCBMBPL

Informations : Dr Claude Guiguen
claud.guiguen@univ-rennes1.fr

HPV: alerte de l'Académie sur le dépistage et la vaccination



Dans un long communiqué, l'Académie nationale de médecine s'est inquiétée des insuffisances de la prévention par la vaccination et du dépistage du cancer du col de l'utérus. Pourquoi cette inquiétude ?

Parce que le cancer du col utérin constitue, dit-elle, un modèle de prise en charge [à préserver] de par l'efficacité de son dépistage, des solutions thérapeutiques ayant un effet délétère faible et d'un vaccin actif sur ses pathogènes : les papillomavirus humains ou HPV.

Premier souci de l'Académie : malgré les différentes recommandations (état des lieux et recommandations pour le dépistage, HAS, juillet 2010), le dépistage par frottis reste insuffisant : 15 à 46 % des femmes de 25 à 65 ans, n'en ont pas eu en 3 ans et le dépistage est sous-

optimal chez 60 % des femmes de 25 à 49 ans. Carences particulières aux milieux défavorisés. L'incidence des cancers diagnostiqués aux stades avancés augmente et la mortalité ne diminue plus : 3 028 cas en 2012, et 1 100 décès.

Face à ce constat, l'Académie nationale de médecine recommande 5 mesures.

- La mise en place d'un dépistage organisé, son efficacité par rapport au dépistage individuel a été prouvée (exemple du Bas-Rhin avec plus de 86 % de couverture).
- La prise en charge des anomalies découvertes par frottis au dépistage nécessite la mise en place de réseaux structurés pour définir la meilleure conduite à tenir en combinant la sécurité carcinologique et la préservation de la fertilité... en évitant le *surtraitement*.
- Les frottis dits à haut risque doivent inciter à faire pratiquer une colposcopie.

- Pour les autres lésions la recherche des HPV combinée avec la recherche de p16 (protéine induite dans les cellules basales par les oncogènes viraux E6 et E7) et de Ki67 (protéine nucléaire présente dans les cellules proliférant) permettrait de mieux trier les patientes éligibles à la coloscopie que le test HPV seul.
- La détection et le génotypage des HPV doivent obéir à des règles strictes qui concernant à la fois le recueil des échantillons, les milieux de transport, la technique de détection et le génotypage lui-même (Rapport d'évaluation sur les conditions pré-analytiques de la recherche du génome [ADN], des HPV oncogènes à partir de frottis cervico-utérins, HAS octobre 2013). Concernant la vaccination contre les HPV, l'Académie considère qu'actuellement la couverture vaccinale ne dépasse pas

20 % et que l'administration des 3 doses requises de vaccin pour les jeunes filles de 14 ans entre 2012 et 2014 a été de 11 %... contre 86 % en Grande Bretagne! Cet état est de fait est dû à 4 constats.

- La méfiance de la population et, sans doute, du corps médical vis-à-vis de la vaccination en général.
- La disponibilité de deux vaccins dirigés contre 2 ou 4 souches de papillomavirus qui assurent la protection contre seulement 70 à 80 % des cancers du col.
- La nécessité de maintenir chez les femmes vaccinées un dépistage.
- Un frein culturel en raison de la nécessité d'une vaccination avant toute contamination virale, à l'âge scolaire et pubertaire contre une maladie à connotation sexuelle [cette réticence se voit aussi aux USA-NDLR].

Or, les vaccins contre les HPV ont fait preuve de leur efficacité et de leur absence de toxicité et un nouveau vaccin à 9 valences qui couvrira 90 % des infections à HPV à l'origine du cancer du col avec une séroconversion de 100 % et sans doute seulement 2 injections devrait être mis sur le marché à la fin 2017.

L'Académie recommande la relance de la campagne de vaccination, l'âge idéal de la vaccination des jeunes filles se situant entre 11 et 14 ans. De plus cette vaccination aurait également un impact sur d'autres cancers HPV-dépendants : vagin, vulve, anus, ORL. ■■

J.-M. M.

Source: Prs Jacques Rouëssé et R. Villet, Académie nationale de médecine, pour la Commission III (Cancérologie).

Contre Zika : déjà 3 médicaments ?

Dans un article paru en plein été dans *Nature Medicine* (29/8/2016) on apprend que le virus Zika, pathogène émergent, disposerait déjà de 3 traitements, médicaments déjà disponibles dans la pharmacopée, qui permettraient la protection des femmes enceintes, et celle du fœtus contre les complications neurologiques dues au virus.

Dans une étude multicentrique, des chercheurs américains (Emily Lee et coll., biologie moléculaire, Université d'État de Floride, Tallahassee) ont passé au crible (*screening*) quelque 6 000 molécules pharmacologiques déjà approuvées par la FDA pour l'usage humain ou encore en cours d'essai clinique. Ils ont ainsi identifié 3 traitements potentiels de l'infection à virus Zika.

L'un des médicaments est le niclosamide, c'est un traitement contre le ténia (*tapeworm*). Il semble qu'il dispose également de propriétés antivirales, qui permettent de bloquer la réplication du virus Zika.

Un autre antiviral potentiellement actif contre Zika est le PHA-690509. C'est un traitement actuellement en développement et qui agit en interférant avec l'expression du matériel génétique des virus.

La troisième molécule, en cours d'examen par la FDA : l'emricasan. Il n'agit pas directement contre le virus mais assure une



protection des neurones du cerveau fœtal en développement. Il aurait une activité anti-apoptose cellulaire.

Ce type de recherche pharmacologique aux USA se justifie. Le virus Zika se transmet déjà de façon active dans la région métropolitaine de Miami, selon les dernières informations des CDC L'infection à virus Zika a déjà le statut d'épidémie à Porto Rico, territoire sous administration américaine. Elle est largement répandue en Amérique Centrale et en Amérique du Sud. La recherche de traitements anti-Zika ciblés est donc indispensable Cette recherche a demandé plusieurs mois grâce à une étude multicentrique entre les NIH, l'Université Johns Hopkins (Baltimore), l'Université d'État de Floride, l'École de médecine Icahn Mount Sinai (New York), l'Université Emory (Atlanta) et l'Université Zhejiang en Chine.

Les équipes impliquées ont débuté des essais précliniques avec les trois molécules sélectionnées d'abord sur des souris puis suivront des primates et ne cachent

pas qu'il se passera beaucoup de temps (un an ou deux) avant qu'on puisse envisager un essai clinique chez l'Homme... Il faudra notamment définir si les molécules sont réellement actives sur des femmes gravides et si elles peuvent s'appliquer à des organismes vivants. Cela peut réussir... ou échouer, disent les responsables des essais.

L'une des difficultés de futurs essais cliniques est le fait que l'infection peut être totalement asymptomatique, alors comment savoir qu'ils sont porteurs du virus. Autre difficulté si des essais cliniques sont effectués chez des femmes enceintes : s'assurer que les molécules sélectionnées n'ont aucun caractère toxique pour le fœtus. Si les essais confirment une efficacité quelconque contre Zika, il restera à déterminer un mode d'utilisation de ces nouveaux médicaments dans les régions où circule le virus, disent les chercheurs américains. ■■

J.-M. M.

Source: HealthDay News

BRÈVES

Médicament orphelin pour greffe pancréatique



© Dmytro Flisak/Fotolia.com

La FDA a accordé le statut de médicament orphelin au Laboratoire Aram Pharmaceuticals pour son *Innate Repair Receptor Activator* ARA 290, un traitement des suites de transplantation d'îlots de Langerhans. ARA 290 est conçu pour augmenter le taux de survie et améliorer la fonction des îlots dans la période post-greffe. Sur des modèles animaux, la molécule a effectivement amélioré la survie et la fonction des îlots transplantés de 85 %, selon Airam. L'augmentation qualitative de la survie des îlots insulino-gènes transplantés est le plus grand défi de cette intervention chez les diabétiques de type 1 de forme sévère, échappant aux traitements conventionnels. La protection des îlots de lésions et de pertes a pu être avérée avec l'ARA 290. Des données récemment publiées par l'Institut Karolinska (Stockholm) ont montré que cette molécule améliore significativement l'évolution de la transplantation d'îlots sur un modèle animal de diabète de type 1. Cette transplantation est également proposée pour la pancréatite chronique.

La FDA, le CA-125 et autres

La *Food & Drug Administration*, appuyée par l'*American College of Obstetricians and Gynecologists*, a mis en doute la fiabilité des tests de détection du cancer de l'ovaire, allant jusqu'à déconseiller leur utilisation ! En dépit d'une recherche intensive et d'études publiées, il n'y a pas actuellement de tests pour le cancer ovarien qui soit suffisamment sensible pour un dépistage fiable et sans un nombre élevé de résultats inexacts, dit la FDA dans un communiqué publié en septembre. Et pourtant, ajoute-t-elle, durant des années, des sociétés ont commercialisé des tests. Pour la FDA, le problème est que ces tests peuvent retarder la mise en œuvre de traitements précoces ou d'une prévention chez des femmes à haut risque asymptomatiques, quand ce n'est pas un risque de traitement non justifié. Est notamment en cause le biomarqueur CA-125, qui peut être élevé chez des femmes, mais qui n'est pas qu'un marqueur de cancer. C'est important surtout pour celles qui sont porteuses des mutations génétiques familiales BRCA1 et BRCA2 qui augmentent le risque de cancers du sein et de l'ovaire, dit la sévère FDA.



© gustavofraza/Fotolia.com

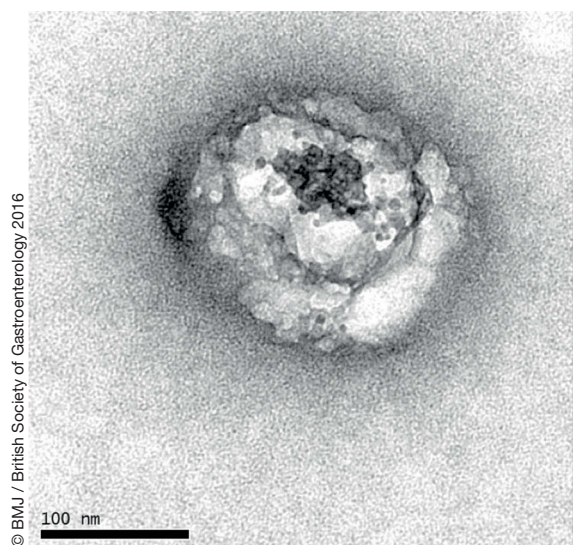
Première: déguisé en lipoprotéine, le VHC observé (enfin) au microscope

Lors d'une présentation à la presse, presse grand public et presse médicale (et biologique), l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) a présenté l'équipe du CHRU de Tours et l'exploit réalisé par celle-ci: les premiers clichés au monde du virus de l'hépatite C (VHC). Première mondiale dans la ville qui vit aussi le premier vaccin contre l'hépatite B (Philippe Maupas et coll.).

Ces scientifiques viennent (enfin!) d'observer le VHC au microscope électronique à transmission. Une première mondiale... alors que le virus est connu depuis 1990 [avant c'était le virus non A non B]. Ces scientifiques sont des chercheurs de l'INSERM à Tours (U 966 *Morphogénèse et antigénicité du VIH et des virus des hépatites*), et la direction de l'INSERM déclare fièrement qu'ils prennent de court d'autres équipes dont une équipe américaine qui pensait avoir réussi cette prouesse en 2013: elle s'était en fait méprise sur la nature des particules qu'elle avait observées.

Ces clichés et leur commentaire ont été publiés dans la revue *Gut*¹, dans laquelle l'équipe de Tours, Jean-Christophe Meunier et coll., décrit la façon dont elle a procédé pour piéger et photographier le virus. En simplifiant, on peut dire que le VHC est un virus qui ressemble à une particule lipidique telle celles circulant dans le sang: «Il ressemble à une simple petite sphère blanche au milieu d'autres sphères blanches lipidiques dans le sang.», dit Jean-Christophe Meunier. Ces *particules chimériques* ont une structure spécifique, comme un *sandwich lipidique* (sic) avec au centre l'ARN et le noyau viraux sous une première couche de phospholipides, entourée d'un mélange d'acides gras et de cholestérol, de nouveau délimité par une seconde couche de phospholipides. La taille du virus est fonction du nombre de couches de lipides.

Le virus met à profit la synthèse hépatique des lipoprotéines, transporteurs sanguins des lipides, pour se répliquer en intégrant leurs composants, il devient un hybride viro-lipidique, une LVP, une *lipo-viral protein*. Jean-Christophe Meunier explique: quand une lipoprotéine est synthétisée, le VHC fusionne avec ses composants (phospholipides et protéines). Ainsi *déguisé* (sic), il a rendu impossible son observation directe sur le sang de patients porteurs. Cette stratégie lui permet de pénétrer plus



© BMJ / British Society of Gastroenterology 2016

facilement dans les cellules et d'échapper au système immunitaire. Il suffisait donc de rechercher des particules lipidiques anormales: pas si facile! Cela a été réalisé par la technique de l'immunocapture avec anticorps spécifiques.

À l'inverse, les lipoprotéines intègrent parfois de façon aléatoire des protéines virales lors de leur synthèse, ce qui peut leurrer l'observateur au microscope, qui pense voir un virus alors qu'il s'agit d'une particule lipidique. C'est ce qui explique qu'en 2013 une équipe américaine crut avoir observé le VHC! Avant la réussite de l'équipe française, les données disponibles sur ce virus depuis 1990 ont été obtenues par la biologie moléculaire car il échappait au microscope.

L'INSERM rappelle que ce virus est responsable de 130 à 150 millions de cas d'hépatite C dans le monde et d'environ 700 000 décès chaque année. ■■

J.-M. M

Source: INSERM Communication.

www.inserm.fr

note: 1. *Gut*, doi:10.1136/gutjnl-2016-311726, on line 11/10/2016.

LIVRES

Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales

La Collégiale nationale des enseignants et praticiens hospitaliers de Parasitologie et Mycologie médicales (ANOFEL) propose la cinquième édition (2016) d'un manuel élaboré en 2006-2007 pour les maladies parasitaires et fongiques. Il est destiné à l'usage des étudiants en médecine et en pharmacie et de tous les médecins, pharmaciens et biologistes soucieux de formation complémentaire. Cette édition a impliqué la majorité des hospitalo-universitaires et praticiens hospitaliers de la discipline. Il comprend 2 parties.

1. Une partie rassemblant en 32 chapitres les connaissances fondamentales actualisées pour les parasitoses et mycoses d'intérêt médical, qu'elles sévissent partout dans le monde (cosmopolites) ou plus spécifiquement dans certaines régions (zones tropicales). Les chapitres sont organisés selon un plan homogène abordant successivement l'épidémiologie, la physiopathologie, la clinique, le diagnostic biologique, le traitement et la prévention. Une abondante illustration de schémas, cycles, tableaux synthétiques, photographies indiqués dans la marge par un pictogramme

ainsi que par des flashcodes et liens vidéo enrichit le texte. L'iconographie est issue pour la majorité du site ANOFEL 5 (www.eanofel.fr, en accès libre). Les sections « Épidémiologie », « Physiopathologie » et les « Points clés » (qui terminent chaque chapitre) seront particulièrement utiles aux étudiants du DFGSM (diplôme de formation générale en sciences médicales) et du DFGSP (diplôme de formation générale de sciences pharmaceutiques), auxquels sont enseignées les bases de la Parasitologie-Mycologie dans les facultés de médecine et de pharmacie en France. Les sections « Clinique », « Diagnostic biologique », « Traitement et prévention » sont très orientées sur les items des Épreuves Classantes Nationales (IECN), dont les objectifs spécifiques sont rappelés en tête de chaque chapitre et sont enseignés dans les unités d'enseignement et les modules transdisciplinaires du DFASM (diplôme de formation approfondie en sciences médicales).

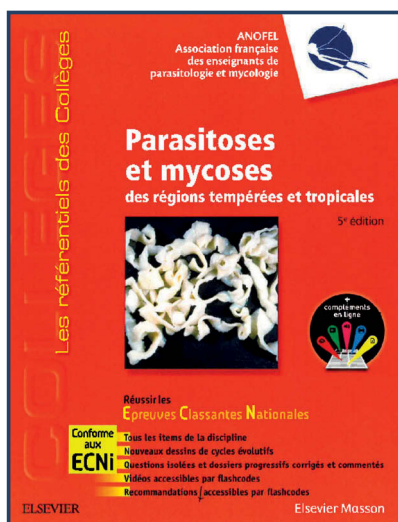
2. Une partie pratique qui rassemble 24 cas cliniques progressifs, 15 cas cliniques classiques, suivis des réponses attendues et notées, sur le modèle des dossiers des IECN et 100 QRM avec réponses attendues et argumentées offrant un véritable outil d'entraînement et d'autoévaluation. Le succès des précédentes éditions a conduit le comité éditorial à mettre à jour le texte initial en ajoutant des nouveautés épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques, des nouveaux schémas de cycles parasitaires, la prévention

des maladies à transmission vectorielle, des tableaux récapitulatifs des médicaments antiparasitaires, antifongiques enrichies des formulations pédiatriques, des algorithmes synthétisant les principales étiologies des splénomégalies, adénomégalies et anémies, parasitaires ou fongiques, tropicales ou cosmopolites.

La Collégiale ANOFEL, en réponse aux attentes des étudiants et des professionnels de santé, s'est efforcée de mettre à disposition un ouvrage clair et synthétique, qui constitue une référence incontournable pour la connaissance des parasitoses et mycoses d'importance médicale des régions tempérées et tropicales. ■■

Les membres du comité éditorial :

Botterel F., Chabasse D., Cornet M., Dardé M.L., Lachaud L., Morio F., Ranque S., Thellier M., Houzé S., Guiguen C.



AGENDA

décembre 2016 - avril 2017

2016

**OMS World AIDS Day/
Journée mondiale du sida**

1^{er} décembre 2016

<http://www.who.int/campaigns/aids-day/2015/event/fr/>

**Journées de biologie praticienne
2-3 décembre 2016**

Paris

www.feuilletsdebiologie.fr

**RICAI 2016
(chimiothérapie anti-infectieuse)
12-13 décembre 2016**

Paris

www.ricai.fr

**Journée de virologie clinique
14 décembre 2016**

Paris

01 45 66 77 46

www.sfm-microbiologie.org

2017

**Journées de biologie clinique
16-17-18 janvier 2017**

Paris/Institut Pasteur

www.jbcneckerpasteur.fr

**Labquality Days 2017
9-10 février 2017**

Helsinki

www.labquality.fi

**Pittcon Conference/Expo
5-9 mars 2017**

Atlanta

www.pittcon.org

**ArabLab
20-23 mars 2017**

Dubai

www.arablab.com

**Microbiology Society Conference
3-6 avril 2017**

Édimbourg

www.microbiologysociety.org



Myasthénie: lorsque la chirurgie peut être envisagée

Dans une étude globale de la myasthénie (en anglais : *myasthenia gravis*), maladie auto-immune caractérisée par une grande fatigabilité musculaire et une asthénie, une équipe de chercheurs médicaux a établi que l'ablation chirurgicale du thymus permet d'observer une atténuation de cette myofatigabilité et une réduction de la thérapeutique immunosuppressive

L'étude a été publiée dans le *New England Journal of Medicine*. Selon Gil Wolfe, investigateur principal, et coll. (*Chair of Neurology, Jacobs School of Medicine and Biomedical Sciences, University at Buffalo, New York*), les résultats actuellement constatés supportent l'idée que la thymectomie est une option thérapeutique validée pour la forme majeure de la myasthénie.

Cette étude, la *Thymectomy Trial in Non-Thymomatous Myasthenia Gravis Patients Receiving Prednisone* (MGTX), était un essai randomisé et contrôlé, chez 126 patients de 18 à 65 ans, suivis entre 2006 à 2012. G. Wolfe et coll. ont comparé l'association de la chirurgie et de l'immunosuppression par prednisone avec ma prednisone prescrite seule. Ils ont réalisé des thymectomies extensives par voie transsternale chez 57 patients. Cette procédure chirurgicale vise à extraire l'essentiel de la glande par chirurgie ouverte.

Les patients inclus devaient avoir une myasthénie depuis moins de cinq ans, des taux circulants élevés d'anticorps anti-récepteurs de l'acétylcholine et n'être pas porteurs de thymome, tumeur spécifique du thymus. L'étude a réuni des neurologues et des chirurgiens thoraciques dans 67 centres médicaux de 18 pays.

Analysant leurs résultats, les chercheurs ont constaté qu'un traitement combiné associant chirurgie et prednisone a permis une régression globale de la fatigabilité musculaire globale supérieure à celle observée avec la prednisone seule. Après 36 mois d'un traitement par la prednisone, chaque groupe de patients avaient amélioré leur score QMG, qui permet de mesurer la force

musculaire (contraction). Le score des patients qui avaient bénéficié de l'association thymectomie-prednisone était supérieur de 2,84 points à celui des patients ayant reçu la prednisone seule.

L'équipe de Buffalo a également constaté que les patients ayant subi la chirurgie du thymus avaient pu réduire la posologie du traitement par prednisone comparativement aux patients ne recevant que la prednisone, soit 44 mg contre 60 mg quotidiennement. Globalement, les premiers nécessitaient moins d'immunosuppresseurs supplémentaires. Finalement, le recours

Une option légitime, qui devrait aider médecins et patients à évaluer le rapport coût/bénéfice d'une procédure réduisant le caractère invalidant de la myasthénie

à la chirurgie a réduit les effets indésirables attribuables à la prednisone seule (93 patients) par rapport à l'association (48 patients), ce qui s'est traduit également par une réduction des hospitalisations.

Ce type d'étude était attendu depuis longtemps par la communauté des sujets atteints de myasthénie, elle était nécessaire et l'on espère qu'elle deviendra un modèle pour des essais rigoureux d'autres modèles de traitements, a commenté le *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS), l'un des instituts spécialisés des NIH.

La myasthénie affecte de 36 000 à 60 000 sujets aux États Unis. Cette appellation décrit en fait un groupe de maladies

neuromusculaires auto-immunes, responsables de fatigabilité musculaire et d'asthénie (fatigue physique chronique) d'intensité variable. Cette affection peut toucher les paupières et les mouvements oculaires, l'expression du visage, la mastication, l'expression orale, la déglutition, la respiration, les mouvements du cou et des membres. Chez environ 80 % des patients, on détecte des taux élevés d'anticorps développés contre les récepteurs de l'acétylcholine, récepteurs musculaires qui reçoivent le signal des nerfs moteurs sous forme d'acétylcholine.

Il existe aussi le recours aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, des molécules qui permettent d'augmenter la concentration en acétylcholine. S'ils ne corrigent pas la fatigabilité musculaire, on propose aux patients des immunosuppresseurs, tels les corticostéroïdes. Mais du fait des effets indésirables du traitement corticostéroïde chronique, les patients sont suivis étroitement et l'on prescrit les plus faibles doses utiles de ces médicaments.

Ces 50 dernières années des études ont suggéré que le thymus, organe impliqué dans le développement de l'immunité cellulaire chez l'enfant, produit des anticorps anti-récepteurs de l'acétylcholine et que son ablation pourrait atténuer les symptômes de la myasthénie. Les récepteurs du thymus seraient la cible du système immunitaire qui générerait des anticorps circulants bloquant les récepteurs musculaires des patients. En cas de thymome plus de 30 % des patients ont une myasthénie, l'ablation de la tumeur soulageant leurs symptômes.

Les spécialistes impliqués dans cette étude notent que la chirurgie concernée peut être coûteuse et non dépourvue de risque. Mais ajoutent que leurs résultats suggèrent que la chirurgie est une option légitime, qui devrait aider les médecins et les patients à évaluer le rapport coût/bénéfice d'une procédure propre à réduire le caractère invalidant de la myasthénie pour le reste de leur vie.

Ce travail a été soutenu par des subventions du NINDS¹, de la *Muscular Dystrophy Association* (myopathies) et de la *Myasthenia Gravis Foundation of America*. ■■

Wolfe G. et al. "Thymectomy in Non-thymomatous Myasthenia Gravis: Results from MGTX, New England Journal of Medicine, April XX, 2016. DOI: 10.1056/NEJMoa1602489.

1. Information sur la myasthénie www.ninds.nih.gov/disorders/myasthenia_gravis/detail_myasthenia_gravis.htm

AVC transitoire : l'aspirine atténue le risque ultérieur

Une étude britannique récemment publiée dans *The Lancet* donne une place importante à l'administration d'aspirine dans les suites immédiates de l'accident ischémique transitoire (AIT), une forme d'accident vasculaire cérébral qui peut se résoudre sans séquelles apparentes dans l'immédiat à condition d'une intervention précoce, d'autant qu'elle constitue généralement le signal d'alerte d'un AVC ultérieur beaucoup plus invalidant.

Pour Peter Rothwell et coll. (*Stroke Prevention Research Unit, Nuffield Department of Clinical Neurosciences, John Radcliffe Hospital, University of Oxford*), la prescription d'un traitement par l'aspirine après un AIT réduit le risque d'un AVC précoce, soit une récurrence beaucoup plus grave. Les auteurs précisent qu'en effet le risque d'un AVC majeur est très élevé juste après un épisode d'AIT (ou AVC mineur) sur une période courte de quelques jours seulement. Ils avaient montré dans une précédente étude (EXPRESS) que l'institution en urgence d'un traitement médical comportant un *cocktail* de différents médicaments pourrait réduire le risque d'AVC constitué dans la semaine de l'AIT de 10 à 20 % environ, mais il n'aurait pas été possible tout d'abord de déterminer quel élément de ce cocktail était le plus important.

P. Rothwell et coll. ont alors entrepris une méta-analyse des données de patients issues de 12 études (n = 15 778) expérimentant le recours à l'aspirine pour la prévention secondaire à long terme et 3 études expérimentant l'usage de l'aspirine au stade aigu de l'AIT (n = 40 000 environ).

Selon les résultats l'essentiel des bénéfices thérapeutiques de l'aspirine dans la réduction du risque de constitution d'un second AVC se constatent dans les toutes premières semaines. Dans 11 essais de l'aspirine vs contrôles, l'aspirine a réduit le risque d'AVC ischémique à six semaines (HR = 0,41 ; 95 % IC, 0,3-0,56). Les données issues de trois autres essais qui ont comparé l'association de l'aspirine et du dipyridamole vs dipyridamole seul ne réduisent pas le bénéfice attendu du traitement préventif (HR = 0,42 ; 95 % IC, 0,32-0,55).

L'administration immédiatement après l'AIT peut réduire le risque d'accident vasculaire cérébral majeur.

L'aspirine exerce par ailleurs un impact sur la sévérité des récurrences d'AVC ischémique, en réduisant le risque à six semaines d'AVC léthal ou invalidant ou d'AVC très sévère de 75 % environ. Cependant, notent les cliniciens britanniques, l'aspirine a moins d'efficacité sur l'AVC non invalidant. Ses bénéfices ne sont pas démontrés après 12 semaines de suivi.

En contrepartie, l'équipe britannique fait le constat que comparée à l'aspirine seule, l'association aspirine + dipyridamole n'influence pas le risque d'AVC ischémique récurrent à 12 semaines, bien qu'après 12 semaines le dipyrida-

mole était associé à une réduction du risque de récurrence d'AVC ischémique et d'AVC ischémique fatal ou invalidant.

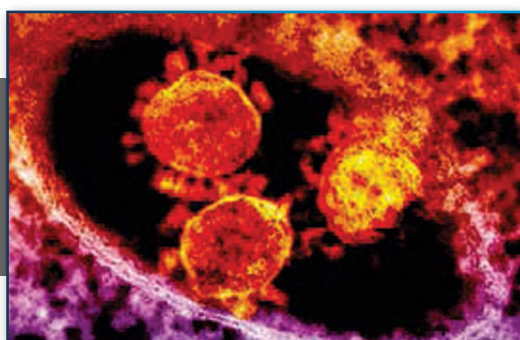
Le traitement immédiat avec l'aspirine peut donc réduire de façon substantielle le risque et la sévérité de la récurrence précoce de l'accident vasculaire cérébral. Cette constatation suppose une forte implication pour les cliniciens, qui doivent opter de prescrire l'aspirine dans les suites immédiates de l'AIT ou de l'AVC à minima que l'on suspecte... plutôt que d'attendre une évaluation par un spécialiste ou le résultat d'examen complémentaires.

L'AIT reste une urgence médicale et une évaluation neurologique extemporanée doit toujours être proposée. Cette étude confirme que l'administration précoce d'aspirine peut réduire de façon spectaculaire le risque et la sévérité d'un AVC ultérieur. C'est ce que confirment les constatations de P. Rothwell et coll., il existe un traitement médical qui réduit le risque de récurrence après AIT/AVC mineur et l'aspirine en est la clé... mais cet effet à court terme aurait pu être sous-estimé. De plus, ce bénéfice précoce justifie l'éducation du public quant à son auto-administration après un AIT, quand l'intervention dans les tout premiers jours en est l'autre clé. ■■

P. Rothwell et coll. *Effects of aspirin on risk and severity of early recurrent stroke after transient ischaemic attack and ischaemic stroke: time-course analysis of randomised trials. Lancet* 388;10042: 365-372. juillet 2016.

Actualités en virologie

Michel Segondy^a



AVANT-PROPOS

La virologie est une discipline qui a connu au cours des 3 dernières décennies de grandes évolutions.

Sur le plan épidémiologique, de nouveaux virus responsables d'infections humaines ont été identifiés. Il s'agit soit d'infections virales émergentes, l'exemple le plus emblématique restant probablement celui du VIH, soit de virus dont l'identification n'a été rendue possible que par le développement des techniques de biologie moléculaire. Les deux cas de figure sont rencontrés avec les coronavirus. Dans cette famille de virus se rencontrent en effet des virus d'identification récente, certains d'entre eux comme le SARS-CoV ou le MERS-CoV étant des virus émergents responsables d'infections respiratoires très sévères, alors que d'autres comme le HCoV-HKU1 et le HCoV-NL63 sont des virus respiratoires relativement communs mais qui n'ont été que récemment identifiés. Dans ce numéro, Nathalie Kin et Astrid Vabret, font le point sur cette famille de virus longtemps méconnus et négligés

mais qui sont désormais largement accessibles au diagnostic.

L'épidémiologie des infections virales est liée à de nombreux facteurs environnementaux et humains. L'épidémiologie des arboviroses, infections virales transmises à l'Homme par des arthropodes vecteurs, connaît à l'heure actuelle de grands bouleversements liés entre-autres à la répartition des vecteurs, aux moyens de transport et aux changements climatiques. Longtemps considérées comme des maladies exotiques, certaines de ces arboviroses peuvent être acquises sur le territoire métropolitain, avec des répercussions en termes de diagnostic et de surveillance épidémiologique. Un point sur la situation actuelle des arboviroses en France métropolitaine est présenté dans ces pages par votre serviteur.

Sur le plan diagnostique, le développement des techniques de biologie moléculaire, avec en particulier la révolution des techniques d'amplification génomique, a rendu possible non seulement la détection rapide de virus non accessibles au diagnostic courant par les techniques virologiques traditionnelles, mais également la quantification virale. Cette détermination de la charge virale est importante pour établir un diagnostic, apprécier la gravité de l'infection et évaluer l'efficacité thérapeutique. La mesure de la charge virale dans les infections à herpesvirus humains incluant le cytomegalovirus, le virus Epstein-Barr, HHV-6 et,

a Pôle biologie-pathologie – Unité de virologie
Centre hospitalier universitaire – Hôpital Saint-Eloi
34295 Montpellier cedex 5

* Correspondance
m-segondy@chu-montpellier.fr

dans des situations plus limitées, HHV-8 est devenue incontournable pour la prise en charge des patients immunodéprimés et en particulier les transplantés d'organes solides ou de moelle osseuse. Les indications et l'interprétation de ces techniques font l'objet de l'article présenté par Marie-Christine Mazon, Corinne Amiel et Henri Agut.

Sur le plan thérapeutique, la découverte de l'aciclovir dans les années 1970 a ouvert une nouvelle ère pour la chimiothérapie antivirale et a d'ailleurs été récompensée par l'attribution d'un prix Nobel en 1988. D'autres molécules ont ensuite été développées pour le traitement des infections à herpès virus afin de cibler d'autres virus que les herpès simplex 1 et 2 et d'offrir une alternative thérapeutique en cas de développement de résistances au traitement. David Boutolleau et Sonia Burrel font le point sur l'utilisation de ces anti-herpétiques en pratique médicale, sur les mécanismes de résistance et sur les nouvelles molécules en cours de développement.

Le traitement de l'hépatite virale C a considérablement progressé ces dernières années. Le traitement par l'association Peg-interféron/ribavirine, qui n'a qu'une action indirecte sur le virus, est resté longtemps le traitement de référence malgré une efficacité limitée - en particulier sur certains génotypes- et une mauvaise tolérance. Ce sont des antiviraux à action directe (AAD, ou DAA selon l'acronyme anglo-saxon), inhibiteurs spécifiques de la protéase (NS3A4), de l'ARN polymérase (NS5B) ou de la protéine NS5A du virus de l'hépatite C, qui sont maintenant à la base de traitements plus

Sommaire thématique	
• Les infections à coronavirus humains	p. 25
• Arboviroses à risque de transmission autochtone en France métropolitaine	p. 35
• Mesure et interprétation des charges virales dans les infections à herpès virus humains.....	p. 47
• Prise en charge thérapeutique des infections à herpès virus : traitements actuels et futurs.....	p. 55
• Les nouveaux traitements de l'hépatite C	p. 65
• QCM	p. 74

courts et considérablement plus efficaces que l'association Peg-interféron/ribavirine, une guérison de l'hépatite C étant obtenue dans la majorité des cas. Joël Gozlan présente dans ce numéro les molécules disponibles et leurs conditions d'utilisation dans les diverses situations cliniques rencontrées.

Merci à tous les auteurs qui ont collaboré à ce numéro. En vous souhaitant une bonne lecture.

La coordination de ce dossier a été assurée par le Dr Michel Segondy, Pôle biologie-pathologie, Unité de virologie, Hôpital Saint-Eloi, Centre hospitalier universitaire de Montpellier avec le Pr Jérôme Le Goff, Laboratoire de microbiologie, Hôpital Saint-Louis (AP-HP) de Paris et le Pr Vincent Maréchal de l'Université Pierre et Marie Curie de Paris.

Les infections à coronavirus humains

Nathalie Kin^{a,*}, Astrid Vabret^b

RÉSUMÉ

Les coronavirus humains (HCoV) sont des virus à ARN simple brin. Il existe actuellement quatre coronavirus dits « classiques » ou « nouveaux », dont la circulation est hivernale. Ils sont à l'origine d'infections respiratoires modérées dans la population générale. Cependant, les infections peuvent être plus sévères dans les populations susceptibles. Notamment, les HCoV sont impliqués dans 2 à 7 % des hospitalisations consécutives à une infection respiratoire, en particulier chez les enfants et les personnes âgées ou immunodéprimées. De ce fait, ils appartiennent au panel de virus respiratoires recherchés lors des diagnostics de routine des infections respiratoires par des outils de biologie moléculaire. Ces coronavirus dits circulants sont à distinguer des deux coronavirus émergents, le SARS-CoV et le MERS-CoV qui sont associés à des pathologies respiratoires plus sévères. Ils se distinguent des autres HCoV par leur potentiel épidémique plus élevé, leur impact sanitaire plus important et leur mode de circulation atypique. À l'instar des paramyxovirus et des virus *Influenza*, les coronavirus doivent être surveillés pour leur risque d'émergence dans la population humaine à partir d'un réservoir animal.

Coronavirus humain - diagnostic - infection respiratoire.

1. Introduction

Les coronavirus humains (HCoV) sont à l'origine d'infections respiratoires plus ou moins sévères selon la population étudiée. À ce jour, six coronavirus humains sont décrits. Parmi eux, deux coronavirus dits « classiques », les HCoV-OC43 et -229E ont été identifiés dans les années 1960 [1,2]. Les deux HCoV-NL63 et -HKU1, sont dits « nouveaux » car ils ont été identifiés plus récemment, au début des années 2000 [3–5]. Ces HCoV sont généralement associés à des infections respiratoires peu sévères. Ils sont à distinguer des deux HCoV émergents, le SARS-CoV (*Severe acute respiratory syndrome associated coronavirus*) et le MERS-CoV (*Middle-East respiratory syndrome coronavirus*), qui sont les seuls à être associés à un syndrome de détresse respiratoire aigu ou SDRA [6,7].

^a Unité de Recherche Risques Microbiens (EA4655)

Université de Caen Normandie,
Esplanade de la Paix,
F-14000 Caen

^b Laboratoire de virologie

CHU Caen,
Avenue Georges Clemenceau,
F-14000 Caen

* correspondance

nathalie.kin01@gmail.com

SUMMARY

New therapies against HCV

Human coronaviruses (HCoV) are single strand RNA viruses. To date, there are four so-called « classical » or « novel » HCoVs, characterized by a winter circulation. These coronaviruses are responsible for mild respiratory infection in general population. However, HCoVs are associated to more severe respiratory tract infection among susceptible population. Indeed, HCoVs account for 2 to 7 % of hospitalizations due to a respiratory infection, particularly among children, immunocompromised or elderly people. Thereby, HCoVs are included in the panel of respiratory viruses detected in routine using molecular biology tools. These four circulating HCoVs have to be distinguished from the two emerging HCoVs: SARS-CoV and MERS-CoV. These later are associated to a more severe respiratory infection and differ from other HCoVs by their increased epidemic potential, their more important health impact, and their atypical circulation. Such as paramyxoviruses and Influenza viruses, coronaviruses have to be monitored due to their associated risk of emergence in human population from animal reservoirs.

Human coronavirus - diagnosis - respiratory infection.

2. Taxonomie et historique des coronavirus

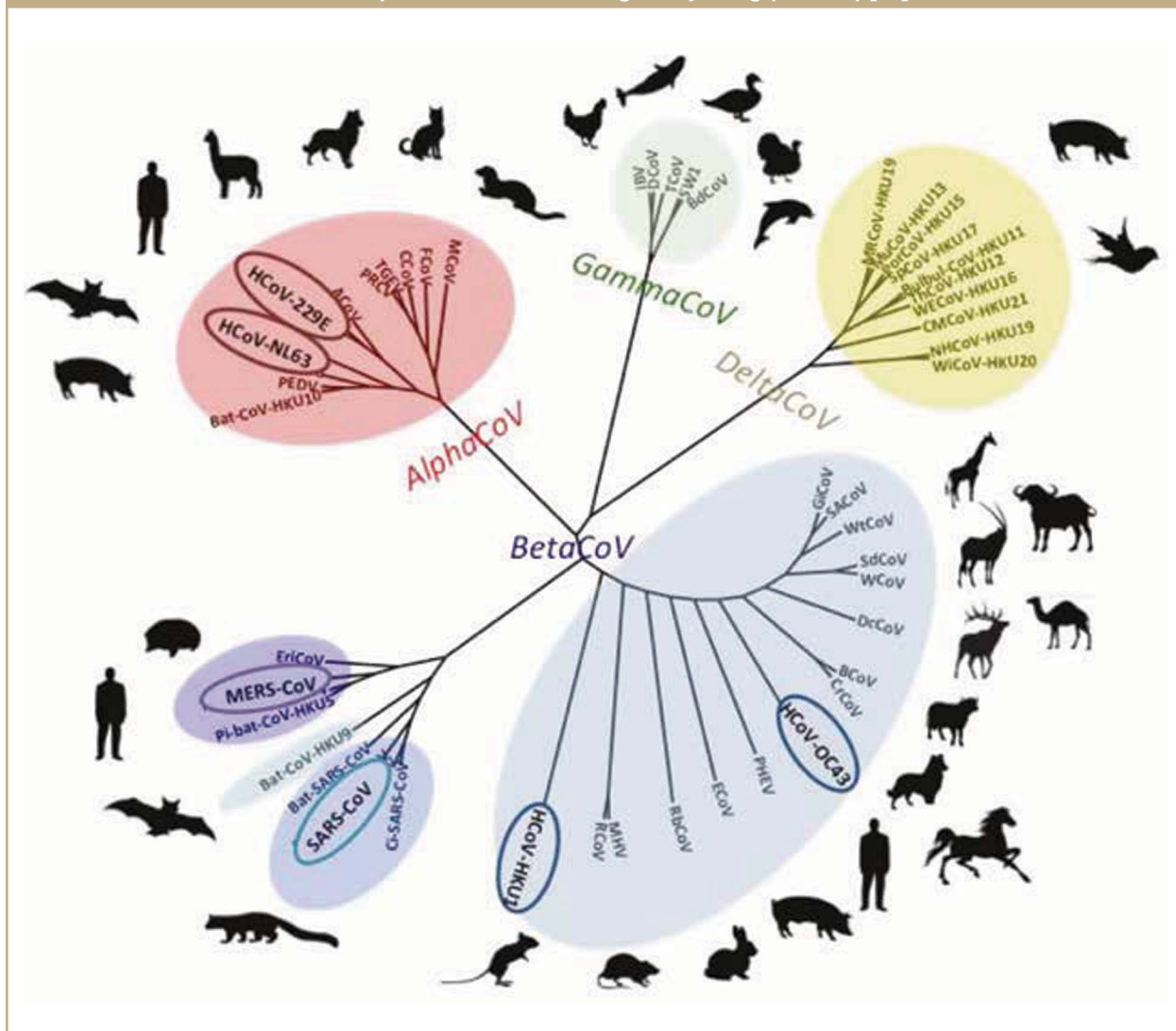
Le terme coronavirus fait référence à la sous-famille des *Coronavirinae*, appartenant à la famille des *Coronaviridae*, elle-même faisant partie de l'ordre des *Nidovirales*. Les coronavirus infectent de nombreuses espèces mammifères et aviaires. Selon la taxonomie actuelle, les *Coronavirinae* sont subdivisés en quatre genres nommés *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-* et *Deltacoronavirus*. Les HCoV-229E et -NL63 appartiennent au genre *Alphacoronavirus*. Les quatre autres coronavirus humains appartiennent au genre *Betacoronavirus* qui est lui-même subdivisé en quatre clades nommés A, B, C et D [8]. Les HCoV-HKU1 et -OC43 sont inclus dans le clade A, le SARS-CoV et le MERS-CoV appartiennent aux clades B et C respectivement (*figure 1*).

Les coronavirus sont connus dans la communauté vétérinaire depuis la fin des années 1930. Lors de l'identification des premiers coronavirus humains HCoV-OC43 et -229E dans les années 1960, une vingtaine de coronavirus infectant des espèces animales aviaires (poulet) et mammifères (chien, chat, porc, bovin, etc.) étaient déjà décrits [2]. Lors de l'identification de ces premiers HCoV, les pathologies respiratoires associées étaient considérées comme trop

article reçu le 30 août 2016, accepté le 30 septembre 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1 – Arbre phylogénétique des *Coronavirinae* incluant 51 génomes complets, construit par la méthode du Neighbor-joining (MEGA6) [14].



Les figures animales représentent le spectre d'hôte. La sous-famille des *Coronavirinae* est divisée en quatre genres nommés Alpha-, Beta-, Gamma- et Deltacoronavirus. Les Alphacoronavirus (AlphaCoV) incluent le MCoV (HM245926), le FCoV (GQ152141), le CCov (JN85008), le TGEV (DQ811785), le PRCV (DQ811787), le ACoV (JQ410000), les HCoV-229E et NL63 (JX503060, JX524171), les Bat-CoV-HKU2, -HKU8 et -HKU10 (NC_009988, NC_010438 et NC_018871) et le PEDV (NC003436). Les Betacoronavirus (BetaCoV) incluent le GiCoV (EF424623), le SACoV (EF424621), le WtCoV (FJ425187), le SdCoV (FJ425190), le WCoV (FJ425186), le DCoV (KF906251), le BCoV (NC_003045), le CrCoV (JX860640), les HCoV-HKU1 et -OC43 (NC_006577 et AY585228), le PHEV (NC_007732), le ECoV (AB671298), le RbCoV (NC_017083), le MHV (AF029248), le RCoV (JF792617), SARS-CoV (AY572034), le SARS-CoV (JX163928), le Bat-SARS-CoV (DQ071615), le Bat-SARS-like-CoV (KC881006), le Bat-CoV-HKU9 (JN857318), le Ty-Bat-CoV-HKU4 (NC_009019), le Pi-bat-CoV-HKU5 (NC_009020), le MERS-CoV (NC_019843) et le EriCoV (NC_022643). Les Gammacoronavirus (GammaCoV) incluent le Duck-CoV (JF705860), l'IBV (NC_001451) et le TCov (NC_010800), le SW1 (NC_010646) et de BCoV (KF793826). Les Deltacoronavirus (DeltaCoV) incluent le Duck-CoV (JF705860), l'IBV (NC_001451) et le TCov (NC_010800), le SW1 (NC_010646) et de BCoV (KF793826). Les Deltacoronavirus (DeltaCoV) incluent le Duck-CoV (JF705860), l'IBV (NC_001451) et le TCov (NC_010800), le SW1 (NC_010646) et de BCoV (KF793826). Les Deltacoronavirus (DeltaCoV) incluent le Duck-CoV (JF705860), l'IBV (NC_001451) et le TCov (NC_010800), le SW1 (NC_010646) et de BCoV (KF793826).

modérées pour susciter un intérêt marqué dans la communauté médicale. En 2003, l'identification d'un coronavirus comme étant l'agent étiologique du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS), circulant de manière pandémique depuis novembre 2002, a généré un intérêt nouveau pour ce groupe viral jusqu'alors peu étudié en médecine humaine [9]. Depuis l'identification du SARS-CoV, de nombreux coronavirus ont été décrits, dont deux infectant l'Homme, les HCoV-NL63 et -HKU1 en 2004 [3-5]. Enfin, en 2012, un nouveau coronavirus humain, le MERS-CoV a émergé au Moyen-Orient. Il est à l'origine d'une pathologie similaire au SRAS [7].

3. Caractéristiques générales des coronavirus

Les coronavirus sont des virus enveloppés pléomorphes dont la taille varie de 80 à 200 nanomètres (nm). L'observation en microscopie électronique permet de distinguer des projections d'environ 20 nm à la surface du virion. Ces projections sont constituées par la protéine de surface S ou *Spike*. Celle-ci est ancrée dans la membrane virale et confère au coronavirus son aspect de couronne. C'est cet aspect particulier qui est à l'origine du nom de ce virus,

le terme « *corona* » signifiant « couronne » en latin. En plus de la protéine S, la particule virale est constituée par trois autres protéines structurales : la protéine de la nucléocapside N, la protéine de membrane ou matrice M et la protéine d'enveloppe E. De plus, les *Betacoronavirus* de clade A contiennent une cinquième protéine structurale, l'hémagglutinine estérase HE (*figure 2*) [10].

Les coronavirus sont caractérisés par un génome ARN positif simple brin, non segmenté et polyadénylé. Les génomes des coronavirus ont une taille avoisinant les 30 kilobases (kb). Ce sont les plus grands génomes de virus ARN répertoriés à ce jour. D'un point de vue général, les deux-tiers 5' du génome, soit environ 18 à 20 kb, sont constitués par deux cadres de lecture ouverts ou ORF (*Open Reading Frame*), nommés ORF1a et ORF1b [11]. L'ORF1ab, correspondant à la fusion des ORF1a et ORF1b, permet la traduction d'une polyprotéine nommée pp1ab grâce à un nœud de phase efficace à 25 % [12]. Cette polyprotéine est ensuite clivée par des protéases virales en 16 protéines non structurales (nsp, *non structural protein*) nommées nsp1 à nsp16. Elles sont impliquées dans le complexe de réplication et de transcription des coronavirus. Le tiers 3' du génome des coronavirus est constitué par au moins quatre cadres de lecture ouverts codant les protéines structurales S, E, M et N. Les *Betacoronavirus* de clade A (dont HCoV-OC43 et HKU1) contiennent un cinquième gène codant une protéine structurale, l'hémagglutinine estérase (HE). De plus, les différents génomes de coronavirus se distinguent entre eux par la présence ou non d'ORF putatifs supplémentaires codant des protéines accessoires (*figure 3*) [13].

4. Manifestations cliniques des infections à coronavirus

4.1. Cas des coronavirus « classiques » et « nouveaux »

Les coronavirus « classiques » (HCoV-OC43 et HCoV-229E) et « nouveaux » (HCoV-HKU1 et HCoV-NL63) sont généralement associés à des infections peu sévères des voies respiratoires hautes. Les infections à coronavirus sont caractérisées par des symptômes non spécifiques et variables selon les patients. Dans la population générale, l'infection à HCoV est le plus souvent associée à une rhinite ou une rhinopharyngite plus ou moins symptomatique [14]. Lorsque l'infection est symptomatique, les signes cliniques les plus souvent décrits sont la fièvre, la toux, des myalgies et une congestion nasale. Les pathologies induites par les différents HCoV sont similaires et le tableau clinique seul ne permet pas de les distinguer entre eux ou vis-à-vis d'autres virus respiratoires, tel que les rhinovirus, les virus Influenza, les métapneumovirus, le virus syncytium respiratoire (RSV) ou les virus para influenza (PIV). Chez les personnes âgées, les jeunes enfants et les patients immunodéprimés, des infections du tractus respiratoire plus sévères voire fatales peuvent être observées [15,16]. Par exemple, le HCoV-NL63 a été associé à des bronchiolites et des broncho-trachéites, deux infections aiguës des voies respiratoires basses des nourrissons [17]. Le HCoV-HKU1 quant à

lui a été identifié pour la première fois chez un patient souffrant de pneumonie. Par la suite, il a été associé à des pneumonies communautaires majoritairement chez les personnes âgées ou présentant une pathologie sous-jacente [18].

Lors d'une infection à HCoV, une pathologie entérique modérée (gastro-entérite, diarrhée) est parfois observée en plus de la pathologie respiratoire. À ce jour, il n'est pas encore clairement défini si l'atteinte entérique est une conséquence indirecte de l'infection ou si les HCoV ont un tropisme entérique avéré [19]. Les HCoV ont à plusieurs reprises été incriminés dans des atteintes neurologiques. Plusieurs études déjà anciennes tendent notamment à les associer à la sclérose en plaque (SEP). Les premières spéculations quant à l'implication d'un coronavirus dans la SEP remontent aux années 1980. Les études se basaient alors sur l'observation de particules similaires aux coronavirus dans le cerveau de patients morts de SEP ou sur la détection d'anticorps dirigés contre les coronavirus, particulièrement HCoV-229E et HCoV-OC43 [20,21]. Plus récemment, des études moléculaires ont permis de détecter les ARN de ces coronavirus dans les fluides cérébraux-spinaux ou dans le cerveau de patients dont certains étaient atteints de SEP ou d'autres troubles neurologiques, mais également au sein d'un groupe contrôle. Ces données suggèrent un potentiel neuroinvasif de ces coronavirus, mais leur implication dans le développement de pathologies neurologiques est débattue.

4.2. Le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère ou SRAS

Le terme SRAS désigne la pathologie induite par le SARS-CoV. Celui-ci est un coronavirus qui a émergé en novembre 2002 et qui a circulé de manière pandémique jusqu'à juillet 2003. Le SARS-CoV est caractérisé par une période d'incubation de 2 à 14 jours. Les premiers symptômes observés sont une forte fièvre, supérieure à 38 °C, ainsi qu'un syndrome respiratoire modéré. Des toux, des maux de tête ou de gorge et un état de fatigue général ont également été rapportés chez certains patients. En quelques jours, les symptômes évoluent, provoquant un syndrome de détresse respiratoire aiguë pouvant nécessiter une aide respiratoire chez les patients les plus susceptibles. Lors de l'infection par le SARS-CoV, les leucocytes neutrophiles et les macrophages s'infiltrent dans les poumons et initient une réponse inflammatoire. Le niveau de cytokines pro-inflammatoires augmente, tandis qu'une lymphopénie est observée. Ces phénomènes sont à l'origine des altérations qui se produisent dans les poumons, notamment, d'un dommage alvéolaire diffus (DAD). Parallèlement, une formation de membranes hyalines et d'œdèmes est observée. Ces altérations morphologiques ont pour conséquence une hypoxie. Dans un second temps, le DAD est associé à une hyperplasie des pneumocytes de type II et à une métaplasie squameuse, ces deux caractéristiques étant révélatrices d'un processus de cicatrisation des poumons. L'aggravation de ces altérations histologiques peut entraîner une pneumonie sévère et le décès du patient. À la radiographie, une condensation uni- ou bilatérale des poumons est observée.

Figure 2 – Schéma de la structure d'un *Betacoronavirus* de clade A.

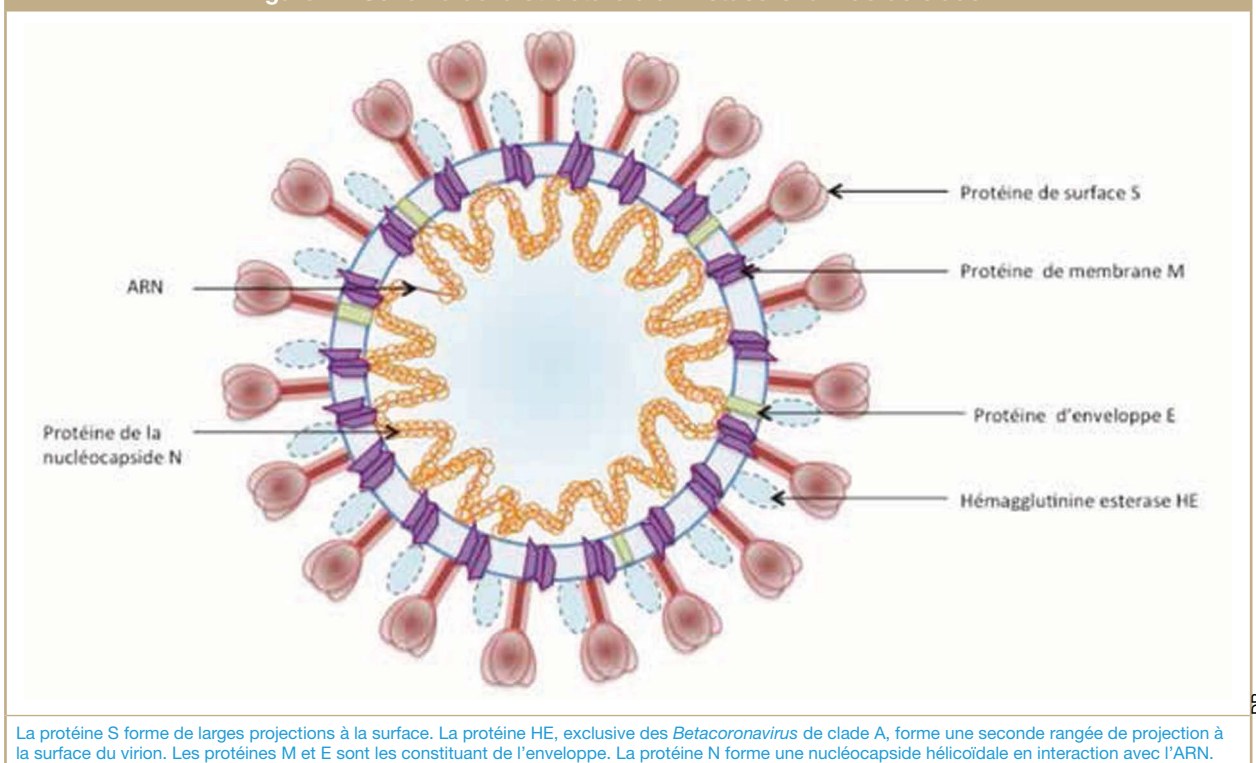
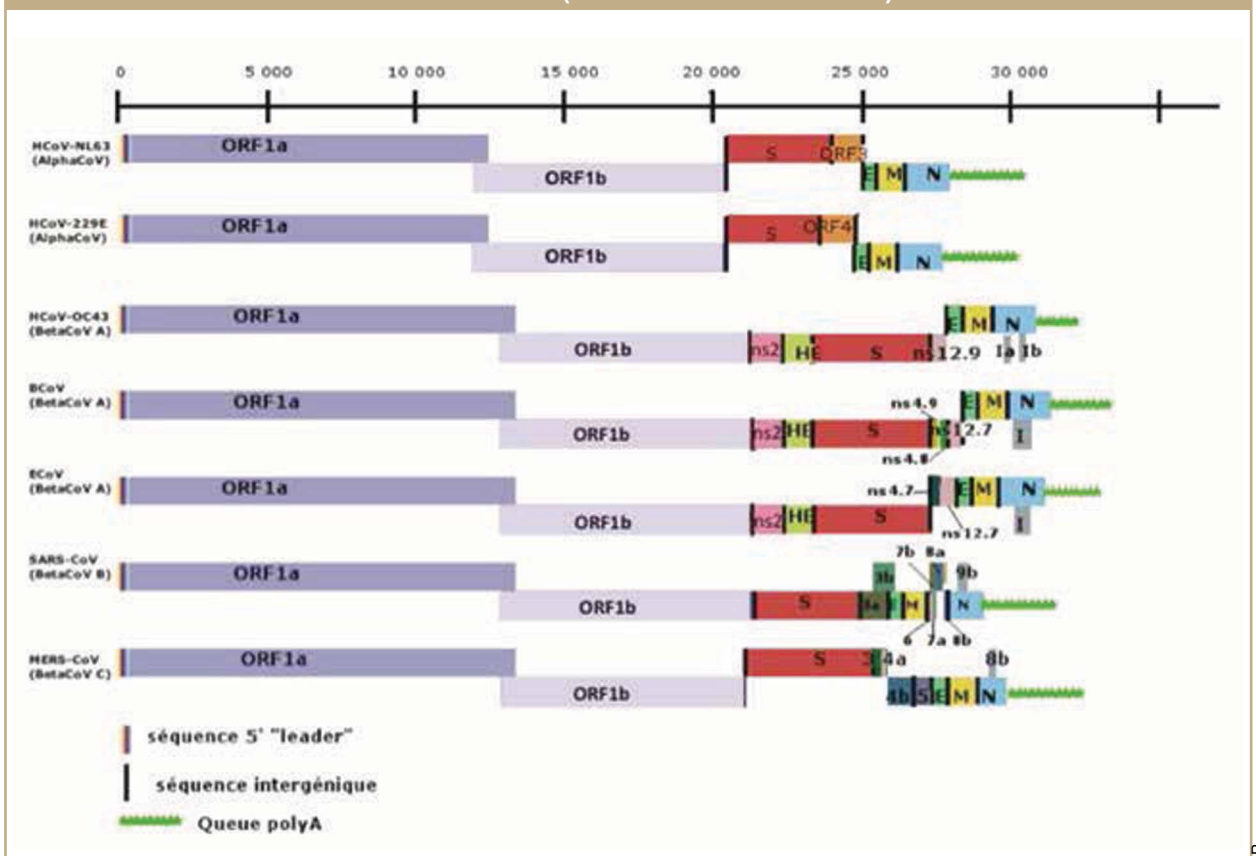


Figure 3 – Comparaison de l'organisation génomique du HCoV-NL63 (*Alphacoronavirus*), du HCoV-OC43 (*Betacoronavirus* de clade A), du SARS-CoV (*Betacoronavirus* de clade B) et du MERS-CoV (*Betacoronavirus* de clade C).



La transmission du SARS-CoV se fait principalement via les sécrétions respiratoires émises par une personne infectée [22]. Quelques cas d'infections asymptomatiques et de pathologies respiratoires hautes peu sévères associées au SARS-CoV ont été détectés. Chez de nombreux patients infectés par le SARS-CoV, des troubles digestifs caractérisés le plus souvent par une diarrhée liquide ont été décrits. La présence de SARS-CoV au niveau de l'épithélium intestinal a d'ailleurs été mise en évidence. Cependant, l'observation des tissus intestinaux à partir de coloscopies et de nécropsies n'a pas révélé d'altérations morphologiques consécutives à la réplication virale du SARS-CoV dans l'intestin. La plus forte proportion de troubles digestifs associés au SARS-CoV a été observée à Hong-Kong, lors d'une épidémie communautaire qui s'est déclarée dans le complexe résidentiel de l'Amoy Gardens. Au cours de cette épidémie 73 % des 321 patients infectés ont développé des troubles digestifs en plus de la symptomatologie respiratoire. Cette épidémie aurait eu pour origine un défaut dans le système de gestion des eaux usées au sein de la résidence, conduisant à l'émission d'aérosols contaminés via les canalisations [23,24]. Le SARS-CoV est détecté dans le sang très précocement après le début des symptômes [25]. Cette virémie peut expliquer la présence de SARS-CoV dans l'intestin et dans les selles, mais la déglutition pourrait également y jouer un rôle. Le SARS-CoV est excrété dans les selles jusqu'à environ 20 jours après le début des symptômes. La présence de SARS-CoV dans les selles constitue l'un des meilleurs marqueurs de l'infection. Cependant, les tentatives d'isolement du SARS-CoV à partir de prélèvements de selles n'ont jamais abouti.

4.3. Manifestations cliniques du MERS-CoV

Le MERS-CoV est à l'origine d'une pathologie respiratoire sévère. Les premiers symptômes observés sont un état pseudo-grippal accompagné de fièvre et d'une toux non productive. L'aggravation des symptômes entraîne un syndrome de détresse respiratoire aiguë et une hypoxie, nécessitant souvent une assistance respiratoire. Les patients âgés, immunodéprimés ou présentant une comorbidité (diabète de type 2, hypertension artérielle, insuffisance rénale chronique, obésité, etc.) sont plus susceptibles de développer une pathologie respiratoire sévère et de succomber à l'infection par le MERS-CoV. Le décès fait suite à une insuffisance respiratoire pouvant être associée à une défaillance multi-organe. Des cas de défaillances rénales associées à la défaillance respiratoire ont été décrits. Quelques cas de troubles digestifs ont également été rapportés [7,26]. En France, deux cas de MERS-CoV ont été décrits en avril-mai 2013, dont un cas fatal [27].

Le MERS-CoV est caractérisé par une période d'incubation de 2 à 13 jours. Une plus grande charge virale est observée dans les prélèvements respiratoires bas que dans les prélèvements respiratoires hauts, ce qui peut expliquer le faible potentiel de transmission de personne à personne. Les mécanismes de la pathogénèse sont encore mal connus. Cependant, il semble que les pneumocytes constituent une cible importante du MERS-CoV [28].

5. Circulation

5.1. Les coronavirus classiques et nouveaux

Depuis l'émergence du SARS-CoV en 2002-2003, de nombreuses études épidémiologiques des HCoV ont été réalisées, utilisant des outils sérologiques et moléculaires de plus en plus performants et sensibles. Dans les dernières études épidémiologiques menées dans différents pays d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Nord et du Sud, d'Europe et d'Australie entre 2001 et 2014, un HCoV a été détecté dans 2,1 à 12 % des prélèvements respiratoires soumis à un diagnostic moléculaire respiratoire. Les HCoV sont à l'origine de 2 à 7 % des hospitalisations consécutives à une infection aiguë du tractus respiratoire, notamment chez les enfants et les personnes âgées ou immunodéprimées. Ces études mettent en avant une circulation saisonnière en automne et en hiver dans les régions tempérées, où l'année est divisée en quatre saisons distinctes. Il semble également y avoir une variation cyclique tous les deux à trois ans des différents HCoV [14,29]. Globalement, HCoV-OC43 et HCoV-NL63 sont les coronavirus les plus souvent détectés. Cette tendance peut être associée à une éventuelle protection immunitaire de HCoV-NL63 vis-à-vis de HCoV-229E d'une part et HCoV-OC43 vis-à-vis de HCoV-HKU1 d'autre part, du fait de leur appartenant au même genre (*Alphacoronavirus* et *Betacoronavirus* respectivement). HCoV-NL63 et HCoV-OC43 sont les coronavirus rencontrés le plus tôt dans l'enfance. La séroconversion vis-à-vis de ces coronavirus a lieu avant l'âge de 3 ans chez la plupart des enfants. Les individus chez lesquels ces virus sont le plus couramment détectés sont les jeunes enfants, les personnes âgées et le personnel soignant. Cependant la pathologie induite étant majoritairement bénigne, chaque individu est susceptible de rencontrer l'un de ces virus sans qu'il ne fasse l'objet d'un diagnostic viral [19,30]. En effet, en 2008, Severance *et al.* ont mis en évidence que plus de 90 % d'un groupe de 196 adultes représentatifs de la population générale a été exposé aux HCoV-OC43, -229E et -NL63, alors qu'une proportion plus faible de 59,2 % a été exposée à HCoV-HKU1 [31].

5.2. L'histoire du SARS-CoV

La pandémie de SARS-CoV a débuté en novembre 2002 dans le delta de la rivière Pearl (Guangdong, Sud de la Chine) par une vague de pneumonies atypiques non épidémiologiquement liées, touchant au moins 11 personnes. Cette première vague fut à l'origine d'au moins deux *clusters* épidémiques dans cette même région de Guangdong au cours de l'hiver 2002-2003. En février 2003, un médecin ayant soigné des patients infectés par le SARS-CoV à l'hôpital de Zhongshan a propagé l'infection à 15 clients de l'Hôtel Metropole de Hong-Kong où il séjournait. Cet événement fut probablement à l'origine de la propagation de l'épidémie à l'échelle mondiale lorsque les cas secondaires infectés, en transfert vers leur destination finale, ont permis la diffusion du SARS-CoV à différents pays dont le Vietnam, le Canada et les USA [22]. Il s'en est suivi une pandémie d'une durée de 144 jours qui a atteint 32 pays. En mars 2003, l'OMS a déclenché une alerte mondiale. Alors que le SARS-CoV se propageait dans le

monde entier, la période de mars-avril 2003 a été marquée par deux épidémies majeures de SARS-CoV à Hong-Kong. La première épidémie s'est manifestée à l'Hôpital Prince of Wales de Hong-Kong, occasionnant 153 cas. Au cours de la seconde épidémie, 321 résidents d'un complexe d'appartement, l'Amoy Gardens, ont été contaminés par le SARS-CoV à partir d'un seul cas index, un patient suivi à l'Hôpital Prince of Wales [24,32]. La fin de la pandémie a été déclarée par l'OMS en juin 2003. Plus de 8 000 personnes auraient été infectées au cours de cette pandémie associée à un taux de mortalité global de 10 % et de plus de 50 % chez les seniors. En 2003-2004, quelques cas de SARS-CoV non épidémiologiquement liés ont été détectés en Chine, dans le delta de la rivière Pearl (Guangdong), mais n'ont eu aucun impact épidémique par la suite. Ce furent les derniers cas de SARS-CoV identifiés. Le contrôle de l'épidémie de SARS-CoV n'a été possible que par la mise en place de mesures sanitaires drastiques dont la fermeture des frontières. Ces mesures ont eu pour conséquence une perte économique importante notamment pour l'Asie. Le coût de la gestion de cette pandémie a été estimé entre 30 et 60 milliards de dollars.

5.3. L'émergence du MERS-CoV

Le MERS-CoV, a été identifié, en septembre 2012, soit 10 ans après le SARS-CoV. Le prélèvement source a été collecté chez un patient âgé de 60 ans, atteint d'une pneumonie et hospitalisé à l'hôpital de Jeddah (Arabie Saoudite). Un second cas a ensuite été détecté aux Royaume-Uni, chez un patient originaire du Qatar et sans lien épidémiologique avec le premier patient [7,33]. Une étude rétrospective a permis d'associer le MERS-CoV à une épidémie qui est survenue en avril 2012 au sein de l'hôpital de Zarqua en Jordanie [34]. En date du 21 mars 2016, 1 694 cas de MERS-CoV ont été notifiés à l'OMS dont 605 mortels [35]. À ce jour, la plupart des cas sont restreints à la péninsule Arabique, notamment l'Arabie Saoudite et le Qatar. Le MERS-CoV a cependant été identifié dans 26 pays d'Afrique, d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Asie. La plupart de ces cas sont épidémiologiquement liés à l'épidémie du Moyen-Orient. Au début du mois de juin 2015, le premier cas de MERS-CoV en Corée du Sud a été détecté. Il constitue la première introduction du MERS-CoV en Asie. Le patient index, de retour d'un voyage en Arabie Saoudite, a fréquenté trois centres de soins différents avant que le diagnostic de MERS-CoV n'ait été établi. Ce seul cas index fut à l'origine d'une épidémie majeure en Corée du sud. En effet, en moins de deux mois, 166 personnes furent infectées dont 30 cas furent fatals [36].

Les dernières études épidémiologiques semblent indiquer que le MERS-CoV circule sous la forme de *clusters* nosocomiaux ou familiaux au sein desquels les MERS-CoV qui les composent sont épidémiologiquement liés, alors que chaque cluster semble provenir d'une source d'infection différente. Ces données suggèrent que le MERS-CoV, dont le R_0 est inférieur à 1, n'est pas totalement adapté à l'Homme et que l'épidémie actuelle serait la conséquence d'une source d'infection mobile d'origine animale. Le réservoir animal suggéré est le dromadaire. En effet, dans la péninsule Arabique, une prévalence importante d'anticorps neutralisants anti-MERS-CoV a été observée parmi les populations

de dromadaires. Notamment, à Oman, ces anticorps neutralisants anti-MERS-CoV ont été détectés chez l'ensemble des dromadaires testés en 2012-2013. Parallèlement, dans les îles Canaries (Espagne) les anticorps neutralisants anti-MERS-CoV ont été détectés chez moins de 10 % des dromadaires testés sur la même période et dans les mêmes conditions [37]. La recherche rétrospective d'anticorps neutralisants anti-MERS-CoV a permis leur détection dans des populations de dromadaires depuis 1993 en Arabie Saoudite et depuis 2003 aux Émirats Arabes Unis [38,39]. Des études de séroprévalence chez les dromadaires ont également été réalisées en Afrique de l'Est, qui exporte des dromadaires vers la péninsule Arabique. Des anticorps neutralisant anti-MERS-CoV ont notamment été trouvés parmi les populations de dromadaires de Somalie depuis 1983, du Soudan depuis 1984, du Kenya depuis 1992 et d'Égypte depuis 1997. À noter que le Soudan est le pays dont la population de dromadaires est la plus importante. À ce jour, aucun cas de MERS-CoV autochtone chez l'Homme n'a été rapporté dans ces pays d'Afrique. Cependant, la situation géopolitique actuelle de ces pays, notamment les guerres civiles au Soudan et en Somalie, pourrait avoir contribué à ce que d'éventuelles infections à MERS-CoV dans la population humaine passent inaperçues [38-40].

6. Diagnostic de l'infection par les coronavirus

6.1. Détection des coronavirus «classiques» et «nouveaux»

En clinique, le diagnostic des infections à coronavirus met en jeu des techniques de diagnostic directe, c'est-à-dire permettant la mise en évidence de l'agent pathogène et non de la réponse de l'hôte à cet agent par la production d'anticorps. En effet, ces virus sont responsables d'infections respiratoires aiguës pour lesquelles la sérologie n'est pas pertinente. Cependant, les techniques de sérologies sont largement utilisées en épidémiologie et pour étudier l'impact et la diffusion de ces virus, c'est pourquoi il est opportun de demander un tube de sang dans le contexte du diagnostic des infections respiratoires. Le diagnostic des infections à coronavirus est réalisé par des techniques de RT-PCR. Les coronavirus humains étant caractérisés par un tropisme respiratoire, la technique de RT-PCR est réalisée sur des prélèvements respiratoires. Le développement des premières techniques de détection des HCoV par RT-PCR remonte aux années 1990. Elles étaient cependant peu utilisées en diagnostic du fait de leur coût élevé. Les coronavirus n'étaient de plus pas recherchés en routine lors des tests de diagnostic des infections respiratoires car leur impact était considéré comme négligeable. Les premières techniques de détection des coronavirus par PCR nichée ou RT-PCR ont vu le jour en 1994 et 1995. Le gène N était alors la cible privilégiée, du fait de son caractère conservé au sein d'une même espèce de coronavirus et parce qu'il est exprimé en abondance dans la cellule infectée [41]. Cependant, d'autres RT-PCR plus récentes ciblent le gène M pour les mêmes raisons [42,43]. Ces techniques moléculaires se sont avérées plus rapides, plus sensibles et plus spécifiques que les autres techniques de détection

d'anticorps ou d'antigène, directes ou indirectes, utilisées jusqu'alors [44,45]. Signalons que pour HCoV-OC43 et -229E, l'obtention d'isolats cliniques par culture cellulaire était alors et reste aujourd'hui difficile voire impossible. Ceci est également vrai pour les HCoV-NL63 et -HKU1 découverts plus récemment, qui ont de ce fait bénéficié des outils moléculaires dès leur identification.

La détection des coronavirus par RT-PCR a été incluse dans le diagnostic de routine des infections à virus respiratoires après l'émergence du SARS-CoV en 2002-2003, quand il s'est avéré que les HCoV pouvaient être à l'origine d'infections respiratoires sévères. Les RT-PCR en temps-réel et les PCR multiplex, permettant la détection simultanée des quatre HCoV-OC43, -NL63, -HKU1 et -229E, sont de plus en plus répandues [29]. Les HCoV appartiennent au panel de pathogènes respiratoires recherchés lors du diagnostic de routine des infections respiratoires, qui inclut également les virus influenza A et B, les virus respiratoires syncytial, les rhinovirus, les adénovirus, le metapneumovirus humain et les virus parainfluenza pour n'en citer que quelques-uns. Le diagnostic de routine de ces infections respiratoires est facilité par la mise à disposition de trousse commerciales permettant une standardisation et une automatisation des procédures. De nombreuses trousse de diagnostic basées sur le multiplexage de PCR et RT-PCR existent à ce jour. Celles-ci sont régulièrement optimisées de manière à inclure de nouvelles cibles virales et bactériennes. Le **tableau 1** liste les principales trousse de détection des virus respiratoires qui incluent les coronavirus humains.

6.2. Détection des coronavirus émergents

Pour les coronavirus émergents, les enjeux du diagnostic moléculaire sont particulièrement importants. Les techniques de RT-PCR sont faciles à développer dès lors que les premières données génomiques sont disponibles. Ces techniques peuvent alors être implémentées dès les phases précoces de l'épidémie. Lors de l'élaboration de la technique, il est important de choisir des régions permettant une amplification spécifique et sensible. Dans le cas du SARS-CoV, les RT-PCR de première génération, élaborées au sein des laboratoires susceptibles de recevoir des échantillons à tester, se basaient exclusivement sur l'amplification d'un segment du premier cadre de lecture codant le complexe de réplication (ORF1ab). Ces techniques de première génération, ont permis de démontrer que les prélèvements respiratoires hauts (prélèvements de gorge et aspirations nasales) étaient associés à un taux de détection plus important que les prélèvements fécaux et les urines [46-49]. Dès avril 2003, des RT-PCR de seconde génération, ciblant un fragment de l'ORF1b, ont été mises au point et commercialisées, tels que la trousse RealArt HPA coronavirus LC (Artus, Hambourg, Allemagne) et la trousse LightCycler SARS-CoV quantification (Roche, Penzberg, Allemagne). Ces deux trousse, d'efficacité équivalente, permettent un taux de détection, tout type d'échantillon confondu, d'environ 70 %. Les prélèvements respiratoires bas permettent d'obtenir le meilleur taux de détection par rapport aux autres types d'échantillons testés (prélèvements respiratoires haut et selles). Cependant, la procédure de collecte des prélèvements respiratoires bas est délicate et constitue souvent un acte invasif augmentant le risque

d'infections nosocomiales. De ce fait, les prélèvements fécaux constituent une bonne alternative, en dépit d'un taux de détection légèrement inférieur à celui observé avec les prélèvements respiratoires bas. À noter que l'excrétion du virus dans les selles peut perdurer jusqu'à 4 semaines après le début des symptômes, ce qui constitue un atout supplémentaire pour ce type de prélèvement [50].

Le MERS-CoV, a été identifié grâce à une RT-PCR consensus ciblant l'ORF1ab réalisée sur un surnageant de culture [51]. Le séquençage du génome complet du MERS-CoV, moins d'un mois après son identification en 2012, a permis la mise en place très rapide des premiers tests moléculaires [52]. Des RT-PCR en temps-réel spécifiques du MERS-CoV ont notamment été élaborées et publiées en septembre 2012. La détection du MERS-CoV fait alors intervenir deux RT-PCR en temps réel, l'une ciblant une région génomique en amont du gène E (*upE*) et l'autre une région génomique localisée dans l'ORF1b. La région de l'ORF1b choisie est spécifique et ne recouvre pas la région de ce gène qui est ciblée par les RT-PCR consensus.

L'OMS préconise l'utilisation de la RT-PCR *upE* en première intention car elle est plus sensible que la RT-PCR ORF1b. Celle-ci peut cependant être utilisée pour confirmation d'un résultat positif avec la RT-PCR *upE*. D'autres techniques de confirmation peuvent être associées à cette technique, notamment une RT-PCR ciblant une région de l'ORF1a. Celle-ci, en plus d'être spécifique, a montré une sensibilité similaire à la RT-PCR en temps réel *upE*. Enfin, dans le but d'apporter des données génomiques, deux RT-PCR de séquençage d'un fragment de l'ORF1ab et d'un fragment du gène N ont également été mises au point. La RT-PCR de séquençage N est plus spécifique. La RT-PCR de séquençage de l'ORF1ab l'est moins car elle a été spécialement conçue pour cibler d'autre *Betacoronavirus* de clade C. Une trousse commerciale a été développée en 2013, la trousse RealStar MERS-CoV RT-PCR kit 1.0, distribuée

Tableau 1 – Trousse commerciales permettant la détection par PCR de pathogènes respiratoires, incluant les HCoV classiques et nouveaux.

Nom de la trousse	Fabricant
Easyplex Respiratory Pathogen 12	Ausdiagnostics, Sydney, Australia
FilmArray RP	BioMérieux, France
MultiCode®-PLx	EraGen Biosciences, Madison, WI, US
Fast Track Diagnostics Respiratory Pathogen 33	Fast Track Diagnostics, Luxembourg
eSensor RVP XT-8 / ePlex	GenMark Diagnostics, Carlsbad, CA, US
CLART PneumoVir 2	Genomica, Coslada, Spain
AdvanSure™ RV	LG life science, Seoul, Korea
xTAG® Respiratory Viral Panel fast	Luminex Molecular Diagnostics, Toronto, Canada
RespiFinder® SMART 22	Pathofinder, Maastricht, Netherlands
ResPlex II Panel v2.0	Qiagen, Germany
Magicplex™ RV Panel Real-time Test	Seegene Inc., Seoul, Korea
Anyplex II RV16	Seegene, Seoul, Korea

par Altona Diagnostics. Celle-ci est basée sur la détection de régions *upE* et ORF1a précédemment décrites [53]. Pour la détection du MERS-CoV, les prélèvements respiratoires bas sont les prélèvements de choix car la réplication virale est localisée dans les voies respiratoires basses où la charge virale est de fait plus élevée [52,54]. Depuis le mois de décembre 2014, suite à la classification du MERS-CoV virus comme Micro-organisme et Toxine hautement pathogène (MOT), le diagnostic de l'infection à MERS-CoV et la prise en charge des cas possibles sont soumis à une réglementation sous la tutelle de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). L'ANSM a mis en place diverses autorisations permettant la détention, la cession, le transport, la mise en œuvre (extraction d'acide nucléique, production, culture, etc.), l'importation et l'exportation du MERS-CoV. Seuls les organismes détenteur de l'une ou plusieurs de ces autorisations sont habilités à réaliser le diagnostic de l'infection à MERS-CoV ou des activités de recherches sur cet agent pathogène. Il existe de plus une procédure de prise en charge des cas possibles dans tous les établissements de santé et les laboratoires d'analyses, décrivant le protocole de prise en charge conformément aux réglementations en vigueur. Cette procédure est régulièrement activée en octobre, au moment du Hadj en Arabie Saoudite, le pays dans lequel l'impact du MERS-CoV est le plus important [55].

Au cours de ces procédures, il est important de bénéficier de techniques de détection multiplexées pour permettre la réalisation d'un diagnostic différentiel.

7. Conclusion

Les coronavirus, comme les autres virus respiratoires, sont des agents pathogènes dont l'impact est à prendre en compte en santé publique. Leur surveillance est particulièrement nécessaire parmi les populations les plus susceptibles telles que les personnes âgées, les enfants et les personnes immunodéprimées car les conséquences d'une infection à HCoV y sont plus importantes, voire fatales. De plus, les coronavirus sont caractérisés par un potentiel évolutif élevé et par un risque d'émergence dans la population humaine à partir d'un réservoir qui n'est pas négligeable. Au moins deux des coronavirus «circulants», le HCoV-OC43 et le HCoV-NL63, semblent avoir une origine zoonotique [56,57]. C'est également le cas des SARS-CoV et MERS-CoV dont les émergences successives dans la population humaine à partir de réservoirs animaux au cours des 15 dernières années tendent à confirmer le risque permanent que représentent les *Coronavirinae* [58,59].

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Hamre D, Kindig DA, Mann J. Growth and Intracellular Development of a New Respiratory Virus. *J Virol* 1967;1:810-6.
- [2] McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1967;57:933-40.
- [3] van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10:368-73. doi:10.1038/nm1024.
- [4] Fouchier RAM, Hartwig NG, Bestebroer TM, Niemeyer B, Jong JC de, Simon JH, et al. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:6212-6. doi:10.1073/pnas.0400762101.
- [5] Woo PCY, Lau SKP, Chu C, Chan K, Tsoi H, Huang Y, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *J Virol* 2005;79:884-95. doi:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005.
- [6] Peiris JSM, Guan Y, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome. *Nat Med* 2004;10:S88-97. doi:10.1038/nm1143.
- [7] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012;367:1814-20. doi:10.1056/NEJMoa1211721.
- [8] Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, Lau CCY, Tsang AKL, Lau JHN, et al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *J Virol* 2012;86:3995-4008. doi:10.1128/JVI.06540-11.
- [9] Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt H-R, Becker S, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1967-76. doi:10.1056/NEJMoa030747.
- [10] Siddell S, Wege H, ter Meulen V. The structure and replication of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1982;99:131-63.
- [11] Siddell S, Wege H, ter Meulen V. The structure and replication of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1982;99:131-63.
- [12] Brierley I, Bourns ME, Binns MM, Bilimoria B, Blok VC, Brown TD, et al. An efficient ribosomal frame-shifting signal in the polymerase-encoding region of the coronavirus IBV. *EMBO J* 1987;6:3779-85.
- [13] Siddell S. The coronaviridae. Plenum press. 1995.
- [14] Walsh EE, Shin JH, Falsey AR. Clinical Impact of Human Coronaviruses 229E and OC43 Infection in Diverse Adult Populations. *J Infect Dis* 2013;208:1634-42. doi:10.1093/infdis/jit393.
- [15] Jean A, Quach C, Yung A, Semret M. Severity and Outcome Associated With Human Coronavirus OC43 Infections Among Children. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32:325-9. doi:10.1097/INF.0b013e3182812787.
- [16] Gerna G, Percivalle E, Sarasini A, Campanini G, Piralla A, Rovida F, et al. Human respiratory coronavirus HKU1 versus other coronavirus infections in Italian hospitalised patients. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol* 2007;38:244-50. doi:10.1016/j.jcv.2006.12.008.
- [17] Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H. Detection of human coronavirus NL63 in young children with bronchiolitis. *J Med Virol* 2005;75:463-5. doi:10.1002/jmv.20289.
- [18] Woo PCY, Lau SKP, Tsoi H, Huang Y, Poon RWS, Chu C, et al. Clinical and Molecular Epidemiological Features of Coronavirus HKU1-Associated Community-Acquired Pneumonia. *J Infect Dis* 2005;192:1898-907. doi:10.1086/497151.
- [19] Cabeça TK, Granato C, Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza Other Respir Viruses* 2013;7:1040-7. doi:10.1111/irv.12101.
- [20] Salmi A, Ziola B, Hovi T, Reunanen M. Antibodies to coronaviruses OC43 and 229E in multiple sclerosis patients. *Neurology* 1982;32:292-5.
- [21] Tanaka R, Iwasaki Y, Koprowski H. Intracisternal virus-like particles in brain of multiple sclerosis patient. *J Neurol Sci* 1976;28:121-6.
- [22] Zhong N, Zheng B, Li Y, Poon L, Xie Z, Chan K, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet* 2003;362:1353-8. doi:10.1016/S0140-6736(03)14630-2.
- [23] Leung WK, To K, Chan PKS, Chan HLY, Wu AKL, Lee N, et al. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated corona-

- virus infection. *Gastroenterology* 2003;125:1011–7. doi:10.1016/j.gastro.2003.08.001.
- [24] Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt GM, et al. A Major Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003;348:1986–94. doi:10.1056/NEJMoa030685.
- [25] Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *J Clin Microbiol* 2010;48:2940–7. doi:10.1128/JCM.00636-10.
- [26] Drosten C, Seilmaier M, Corman VM, Hartmann W, Scheible G, Sack S, et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Lancet Infect Dis* 2013;13:745–51. doi:10.1016/S1473-3099(13)70154-3.
- [27] Guery B, Poissy J, el Mansouf L, Séjourné C, Ettahar N, Lemaire X, et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. *The Lancet* 2013;381:2265–72. doi:10.1016/S0140-6736(13)60982-4.
- [28] Ng DL, Hosani FA, Keating MK, Gerber SI, Jones TL, Metcalfe MG, et al. Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Ultrastructural Findings of a Fatal Case of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am J Pathol* 2016;186:652–8. doi:10.1016/j.ajpath.2015.10.024.
- [29] Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *J Clin Microbiol* 2010;48:2940–7. doi:10.1128/JCM.00636-10.
- [30] Dijkman R, Jebbink MF, Idrissi NBE, Pyrc K, Müller MA, Kuijpers TW, et al. Human Coronavirus NL63 and 229E Seroconversion in Children. *J Clin Microbiol* 2008;46:2368–73. doi:10.1128/JCM.00533-08.
- [31] Severance EG, Bossis I, Dickerson FB, Stallings CR, Origeni AE, Sullens A, et al. Development of a Nucleocapsid-Based Human Coronavirus Immunoassay and Estimates of Individuals Exposed to Coronavirus in a U.S. Metropolitan Population. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:1805–10. doi:10.1128/CVI.00124-08.
- [32] McKinney KR, Gong YY, Lewis TG. Environmental transmission of SARS at Amoy Gardens. *J Environ Health* 2006;68:26–30–52.
- [33] Bermingham A, Chand M, Brown CS, Aarons E, Tong C, Langrish C, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill* 2012;17.
- [34] Hijawi B, Abdallat M, Sayaydeh A, Alqasrawi S, Haddadin A, Jaarour N, et al. Novel coronavirus infections in Jordan, April 2012: epidemiological findings from a retrospective investigation. *East Mediterr Health J Rev Santé Méditerranée Orient Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit* 2013;19 Suppl 1:S12–18.
- [35] OMS | Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) – Arabie saoudite. WHO n.d. <http://www.who.int/csr/don/21-march-2016-mers-saudi-arabia/fr/> (accessed April 5, 2016).
- [36] Cowling B, Park M, Fang V, Wu P, Leung G, Wu J. Preliminary epidemiological assessment of MERS-CoV outbreak in South Korea, May to June 2015. *Eurosurveillance* 2015;20:21163. doi:10.2807/1560-7917.ES2015.20.25.21163.
- [37] Meyer B, Müller MA, Corman VM, Reusken CBEM, Ritz D, Godeke G-J, et al. Antibodies against MERS coronavirus in dromedary camels, United Arab Emirates, 2003 and 2013. *Emerg Infect Dis* 2014;20:552–9. doi:10.3201/eid2004.131746.
- [38] Perera RA, Wang P, Gomaa MR, El-Shesheny R, Kandeil A, Bagato O, et al. Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June 2013. *Euro Surveill* 2013;18:20574.
- [39] Corman VM, Jores J, Meyer B, Younan M, Liljander A, Said MY, et al. Antibodies against MERS Coronavirus in Dromedary Camels, Kenya, 1992–2013. *Emerg Infect Dis* 2014;20. doi:10.3201/eid2008.140596.
- [40] Müller MA, Corman VM, Jores J, Meyer B, Younan M, Liljander A, et al. MERS Coronavirus Neutralizing Antibodies in Camels, Eastern Africa, 1983–1997. *Emerg Infect Dis* 2014;20. doi:10.3201/eid2012.141026.
- [41] Hiscox JA, Wurm T, Wilson L, Britton P, Cavanagh D, Brooks G. The Coronavirus Infectious Bronchitis Virus Nucleoprotein Localizes to the Nucleolus. *J Virol* 2001;75:506–12. doi:10.1128/JVI.75.1.506-512.2001.
- [42] Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, Maes P, Duson G, Ranst MV. Development of One-Step, Real-Time, Quantitative Reverse Transcriptase PCR Assays for Absolute Quantitation of Human Coronaviruses OC43 and 229E. *J Clin Microbiol* 2005;43:5452–6. doi:10.1128/JCM.43.11.5452-5456.2005.
- [43] Vabret A, Mouthon F, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2001;97:59–66. doi:10.1016/S0166-0934(01)00343-3.
- [44] Myint S, Johnston S, Sanderson G, Simpson H. Evaluation of nested polymerase chain methods for the detection of human coronaviruses 229E and OC43. *Mol Cell Probes* 1994;8:357–64. doi:10.1006/mcpr.1994.1052.
- [45] Sizun J, Arbour N, Talbot PJ. Comparison of immunofluorescence with monoclonal antibodies and RT-PCR for the detection of human coronaviruses 229E and OC43 in cell culture. *J Virol Methods* 1998;72:145–52. doi:10.1016/S0166-0934(98)00013-5.
- [46] Emery SL, Erdman DD, Bowen MD, Newton BR, Winchell JM, Meyer RF, et al. Real-Time Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction Assay for SARS-associated Coronavirus. *Emerg Infect Dis* 2004;10:311–6. doi:10.3201/eid1002.030759.
- [47] Poon LLM, Wong OK, Luk W, Yuen KY, Peiris JSM, Guan Y. Rapid Diagnosis of a Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). *Clin Chem* 2003;49:953–5. doi:10.1373/49.6.953.
- [48] Peiris J, Chu C, Cheng V, Chan K, Hung I, Poon L, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *The Lancet* 2003;361:1767–72. doi:10.1016/S0140-6736(03)13412-5.
- [49] Chan KH, Poon LLM, Cheng VCC, Guan Y, Hung IFN, Kong J, et al. Detection of SARS Coronavirus in Patients with Suspected SARS. *Emerg Infect Dis* 2004;10:294–9. doi:10.3201/eid1002.030610.
- [50] Drosten C, Chiu L-L, Panning M, Leong HN, Preiser W, Tam JS, et al. Evaluation of Advanced Reverse Transcription-PCR Assays and an Alternative PCR Target Region for Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus. *J Clin Microbiol* 2004;42:2043–7. doi:10.1128/JCM.42.5.2043-2047.2004.
- [51] van Boheemen S, de Graaf M, Lauber C, Bestebroer TM, Raj VS, Zaki AM, et al. Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *mBio* 2012;3. doi:10.1128/mBio.00473-12.
- [52] Corman VM, Eckerle I, Bleicker T, Zaki A, Landt O, Eschbach-Bludau M, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Middle East Respir Syndr Coronavirus MERS-CoV* 2013;12:30.
- [53] Corman VM, Ölschläger S, Wendtner C-M, Drexler JF, Hess M, Drosten C. Performance and clinical validation of the RealStar® MERS-CoV Kit for detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus RNA. *J Clin Virol* 2014;60:168–71. doi:10.1016/j.jcv.2014.03.012.
- [54] Memish ZA, Assiri AM, Al-Tawfiq JA. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) viral shedding in the respiratory tract: an observational analysis with infection control implications. *Int J Infect Dis* 2014;29:307–8. doi:10.1016/j.ijid.2014.10.002.
- [55] Micro-organismes et toxines hautement pathogènes (MOT) - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé n.d. [http://ansm.sante.fr/Dossiers/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Dossiers/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/Micro-organismes-et-toxines-hautement-pathogenes-MOT/(offset)/0) (accessed June 14, 2016).
- [56] Huynh J, Li S, Yount B, Smith A, Sturges L, Olsen JC, et al. Evidence Supporting a Zoonotic Origin of Human Coronavirus Strain NL63. *J Virol* 2012;86:12816–25. doi:10.1128/JVI.00906-12.
- [57] Vijgen L, Keyaerts E, Lemey P, Maes P, Reeth KV, Nauwynck H, et al. Evolutionary History of the Closely Related Group 2 Coronaviruses: Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus, Bovine Coronavirus, and Human Coronavirus OC43. *J Virol* 2006;80:7270–4. doi:10.1128/JVI.02675-05.
- [58] Wang M, Yan M, Xu H, Liang W, Kan B, Zheng B, et al. SARS-CoV Infection in a Restaurant from Palm Civet. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1860–5. doi:10.3201/eid1112.041293.
- [59] Ferguson NM, Van Kerkhove MD. Identification of MERS-CoV in dromedary camels. *Lancet Infect Dis* 2014;14:93–4. doi:10.1016/S1473-3099(13)70691-1.

Arboviroses à risque de transmission autochtone en France métropolitaine

Michel Segondy^a

RÉSUMÉ

Les arboviroses, infections virales transmises par des arthropodes vecteurs, sont considérées comme des maladies exotiques. Cependant, certaines de ces infections peuvent être contractées sur le territoire métropolitain. Les arthropodes vecteurs présents en France permettent entre autres la transmission de l'encéphalite à tiques, des virus West Nile et Tahyna (moustiques) ou du virus Toscana (phébotomes). Ces dernières années, *Aedes albopictus* (moustique tigre) s'est implanté dans le sud de la France et progresse vers des régions plus septentrionales. Ce moustique est un vecteur pour les virus de la dengue, du chikungunya et du virus Zika. Des cas autochtones de dengue et de chikungunya ont été observés à plusieurs reprises depuis l'implantation de ce moustique et la survenue d'infections à virus Zika paraît probable en raison de l'extension épidémique de ce virus.

Arboviroses - cas autochtones - chikungunya - dengue-encéphalite à tiques - West Nile - zika.

1. Introduction

Les arbovirus sont des virus appartenant à différentes familles ayant pour caractéristique d'être transmis par des arthropodes vecteurs hématophages (arbovirus: contraction de **arthropod-borne virus**). Ce terme réunit donc un ensemble hétérogène de virus correspondant à un regroupement sur une base épidémiologique et non taxinomique. Il convient de préciser que la transmission du virus à l'hôte par l'arthropode vecteur ne résulte pas d'un transfert passif mais que ces virus prélevés par l'arthropode lors d'un repas sanguin chez un hôte virémique doivent se multiplier dans les glandes salivaires du vecteur avant d'être inoculé à l'occasion d'un autre repas sanguin. Ces virus sont donc particulièrement aptes à franchir la barrière d'espèces. Ils peuvent infecter non seulement de nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux, mais également des reptiles et des batraciens [1]. Ils sont donc responsables de zoonoses et d'anthropo-zoonoses. Plus de 600 arbovirus ont été identifiés à ce jour, leur nombre

ne cessant de croître, et plus d'une centaine sont reconnus comme pathogènes pour l'homme. Ces virus se répartissent dans différents genres, principalement dans quatre familles (**tableau I**).

Sur le plan clinique, les arboviroses sont associées à 3 grands types de syndromes :

- des manifestations fébriles et algiques (syndrome *dengue-like*);
- des atteintes encéphalo-méningées;
- des fièvres hémorragiques.

La gravité de ces infections diffère selon les virus et les individus, mais beaucoup d'arboviroses peuvent être cliniquement sévères, pouvant même mettre en jeu le pronostic vital. Certaines arboviroses donnent lieu à des épidémies de grande ampleur et posent donc de réels problèmes de santé publique.

Si la grande majorité des arboviroses se rencontrent uniquement dans les régions tropicales, il existe des arboviroses sévissant dans des pays à climat tempéré, y compris des pays européens. Par ailleurs, en raison de l'extension de l'aire de répartition de certains vecteurs, tels que *Aedes albopictus* et du réchauffement climatique global, des arboviroses d'origine tropicale peuvent sévir dans des régions tempérées. Ainsi, à côté des cas importés, certaines arboviroses peuvent être contractées en France métropolitaine (**tableau I**).

SUMMARY

Arboviral infections at risk of autochthonous transmission in metropolitan France

Arboviral diseases that are viral infections transmitted by arthropod vectors, are considered as exotic diseases. However some of these infections can be acquired in the French metropolitan area. Arthropod vectors present in France may be involved in the transmission of tick-borne encephalitis, West Nile and Tahyna viruses (mosquitoes) or Toscana virus (sand flies). These last past years, the establishment of *Aedes albopictus* (tiger mosquito) was observed in southern France, with a current spread towards northern areas. This mosquito is a vector for dengue, chikungunya and Zika viruses. Autochthonous cases of dengue and chikungunya have been repeatedly observed and the occurrence of Zika virus infections is likely due to the international epidemic context of this disease.

Arboviruses - autochthonous cases - chikungunya - dengue - tick borne encephalitis - West Nile - zika.

^a Pôle Biologie-Pathologie

Département de Bactériologie et Virologie

Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier - Hôpital Saint-Eloi

34295 Montpellier cedex 05

correspondance

m-segondy@chu-montpellier.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 30 septembre 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Tableau – Principaux arbovirus pathogènes pour l'Homme

Famille	Genre	Virus	Répartition	Vecteurs	Réservoirs	Pouvoir pathogène
Togaviridae	<i>Alphavirus</i>	Chikungunya*	Cosmopolite (climats chauds)	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Homme, primates, petits mammifères, oiseaux	Fièvre-algies
		Sindbis	Cosmopolite	Moustiques (divers)	Oiseaux	Fièvre-algies
		O'Nyong-nyong	Afrique	Moustiques (Anophèles)	Homme	Fièvre-algies
		Ross River	Australie, Océanie	Moustiques (<i>Aedes, Culex</i>)	Marsupiaux, divers mammifères, oiseaux	Fièvre-algies
		Barmah Forest	Australie	Moustiques (<i>Aedes, Culex</i>)	Marsupiaux	Fièvre-algies
		Semliki Forest	Afrique	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Homme, primates, rongeurs, animaux domestiques, oiseaux	Fièvre-algies
		Mayaro	Amérique du Sud	Moustiques (<i>Haemagogus</i>)	Primates	Fièvre-algies
		VEE, EEE, WEE	Amérique	Moustiques (divers)	Oiseaux	Encéphalites
Flaviviridae	<i>Flavivirus</i>	Fièvre jaune	Afrique, Amérique du Sud	Moustiques (<i>Aedes, Haemagogus</i>)	Homme, primates	Fièvre hémorragique
		Dengue (1,2,3,4)*	Cosmopolite (climats chauds)	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Homme	Fièvre-algies, formes hémorragiques
		West Nile*	Cosmopolite	Moustiques (<i>Culex</i>)	Oiseaux	Fièvre-algies, méningoencéphalite
		Encéphalite à tiques*	Europe, Asie septentrionale	Tiques (<i>Ixodes</i>)	Mammifères, oiseaux	Méningoencéphalite
		Encéphalite japonaise	Asie	Moustiques (<i>Culex</i>)	Oiseaux, porc	Méningoencéphalite
		Encéphalite de St-Louis	Amérique du Nord	Moustiques (<i>Culex</i>)	Oiseaux	Méningoencéphalite
		Fièvre d'Omsk	Sibérie	Tiques (<i>Dermacentor, Ixodes</i>)	Rat musqué	Fièvre hémorragique
		Fièvre de la forêt de Kyasanur	Inde du Sud	Tiques (<i>Haemaphysalis</i>)	Rongeurs, primates	Fièvre hémorragique
		Usutu*	Afrique, Europe	Moustiques (<i>Culex</i>)	Oiseaux	Méningoencéphalite
		Wesselsbron	Afrique	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Ovins, caprins	Fièvre-algies
		Zika*	Cosmopolite (climats chauds)	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Primates, Homme	Fièvre-algies
Bunyaviridae	<i>Orthobunyavirus</i>	Bunyamwera	Afrique de l'Est	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Homme	Fièvre
		Tahyna*	Cosmopolite	Moustiques (<i>Anopheles, Aedes, Culex</i>)	Rongeurs, petits mammifères	Fièvre
		La Crosse**	États-Unis	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Petits mammifères	Méningoencéphalite
		Oropouche	Amérique du Sud	Moustiques (<i>Aedes, Culex</i>)	Primates, oiseaux	Fièvre-algies
	<i>Phlébovirus</i>	Fièvre de la vallée du Rift	Afrique	Moustiques (<i>Aedes</i>)	Ruminants	Fièvre-algies Formes hémorragiques ou encéphalitiques
		Sandfly fever (Naples, Sicile, Toscana* ...)	Régions méditerranéennes	Phlébotomes	Phlébotomes	Fièvre Atteintes neurologiques
	<i>Nairovirus</i>	Fièvre Crimée-Congo	Afrique, Asie, Moyen Orient, Balkans	Tiques (<i>Hyalomma</i>)	Mammifères sauvages et domestiques	Fièvre hémorragique
Reoviridae	<i>Coltivirus</i>	Fièvre à tiques du Colorado	Amérique du Nord	Tiques (<i>Dermacentor</i>)	Petits mammifères	Fièvre-algies Atteintes neurologiques
	<i>Orbivirus</i>	Orungo	Afrique	Moustiques (<i>Aedes, Culex, Anopheles</i>)	Primates	Fièvre-algies

VEE : encéphalite équine du Venezuela, EEE : encéphalite équine de l'Est, WEE : encéphalite équine de l'Ouest

* Virus à risque de transmission en France métropolitaine

* *Virus La Crosse et autres virus appartenant au séro groupe California

2. Arthropodes vecteurs d'arboviroses en France métropolitaine

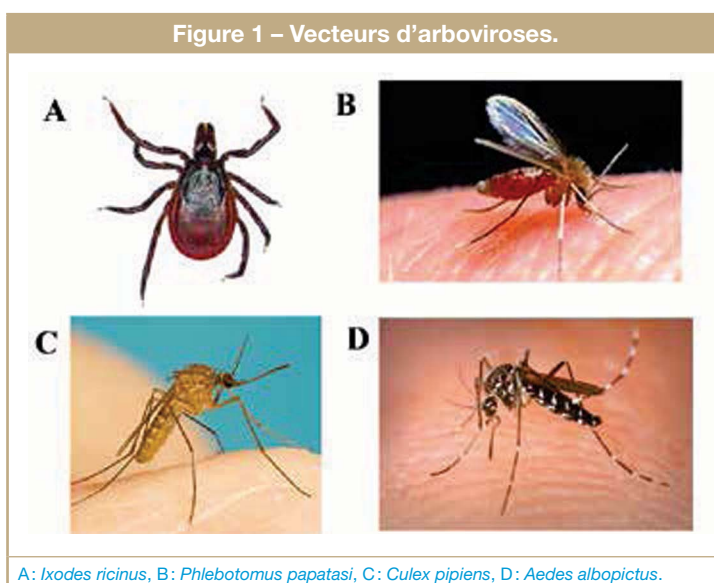
2.1. Tiques

Il existe de nombreuses espèces de tiques, une quarantaine d'entre elles ont été identifiées en France [2]. Les espèces principales sont *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor reticulatus* et *Dermacentor marginatus*. Ces tiques sont les vecteurs de différentes infections bactériennes, parasitaires ou virales pouvant toucher diverses espèces animales et l'Homme. Il faut citer en particulier la borréliose de Lyme (*I. Ricinus*), la piroplasmose (*R. sanguineus*, *Dermacentor*) ou la fièvre boutonneuse méditerranéenne due à *Rickettsia conorii* (*R. sanguineus*). *I. ricinus* est la principale tique européenne (figure 1) ; elle est présente dans la plupart des régions françaises mais absente de la région méditerranéenne. À côté de la borréliose de Lyme, cette tique est le vecteur du virus de l'encéphalite à tiques.

2.2. Phlébotomes

Les phlébotomes sont de petits diptères (plus petits qu'un moustique) ressemblant à un moucheron de couleur pâle (figure 1). Il existe de nombreuses espèces réparties dans différentes régions du monde, en particulier dans les régions tropicales et méditerranéennes. En France métropolitaine les 2 espèces principales de phlébotome sont *Phlebotomus perniciosus* et *P. ariasi*. Ils préfèrent les régions chaudes et sèches et sont surtout abondants dans la région méditerranéenne (figure 2). On les trouve en période estivale et ils ont une activité essentiellement crépusculaire ou nocturne. La femelle est hématophage et les phlébotomes piquent différentes espèces animales. Ce sont des vecteurs de maladies parasitaires (leishmanioses), bactériennes (*Bartonella bacilliformis* responsable de la fièvre d'Oroya en Amérique du Sud) et d'arboviroses (fièvres à phlébotome).

Figure 1 – Vecteurs d'arboviroses.

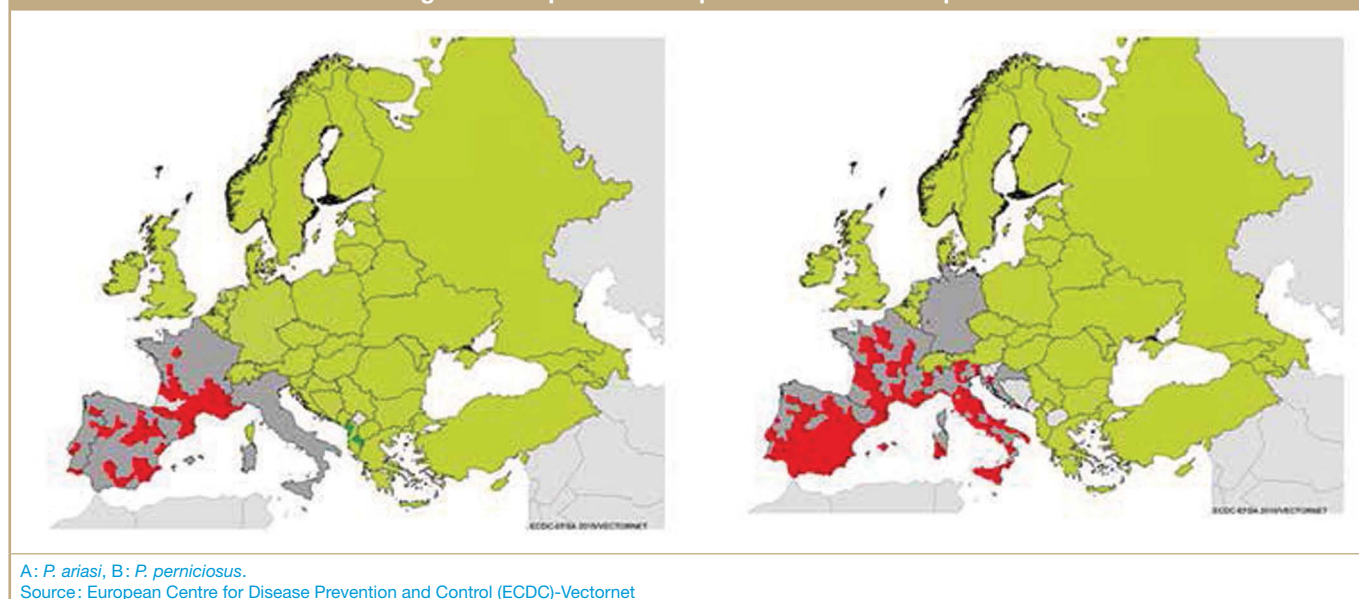


A: *Ixodes ricinus*, B: *Phlebotomus papatasi*, C: *Culex pipiens*, D: *Aedes albopictus*.

2.3. Moustiques

Il existe plus de 3 500 espèces de moustiques (formant la famille des *Culicidae*) dans le monde répartis dans plus d'une centaine de genres et présents sous toutes les latitudes. Dans la plupart des espèces, les femelles sont hématophages, les repas sanguins étant indispensables à la ponte. En plus des nuisances liées aux piqûres, les moustiques sont des vecteurs de maladies transmissibles pour l'homme et les animaux. Il faut citer en particulier le paludisme, les filarioses et les arboviroses. Les moustiques impliqués dans la transmission de maladies appartiennent principalement aux genres *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*. Il existe plus de 60 espèces de moustiques en France métropolitaine et ces 3 genres sont représentés [3, 4]. Toutefois, le nombre d'espèces vectrices d'arboviroses est limité en France métropolitaine.

Figure 2 – Répartition des phlébotomes en Europe.



A: *P. ariasi*, B: *P. perniciosus*.

Source: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)-Vectornet

2.3.1. Genre *Culex*

Parmi les moustiques du genre *Culex* (Cx), c'est *Cx. pipiens* (figure 1) qui est le plus commun en France, et il existe de nombreuses sous-espèces. C'est un moustique nocturne très présent en zone urbaine (« moustique de la chambre à coucher »). C'est un moustique anthropophile mais capable de piquer tous les animaux à sang chaud. *Cx. pipiens* peut être vecteur du virus West-Nile [5, 6]. Il a été également rapporté comme un vecteur du virus Usutu [7]. Il pourrait être également un vecteur potentiel pour le virus de la fièvre de la Vallée du Rift [8].

Cx. modestus, présent essentiellement dans la région camarguaise où son abondance est liée à la riziculture, est un vecteur particulièrement efficace pour le virus West-Nile [5, 6, 9].

2.3.2. Genre *Aedes*

Certaines espèces d'*Aedes* (Ae) sont maintenant classées dans le genre *Ochlerotatus* (O). *Ae. (O) caspius* et *Ae. (O) detritus* sont des espèces halophiles particulièrement abondantes dans les zones marécageuses de Camargue, du Languedoc, mais aussi de la côte atlantique. Les femelles pondent sur des substrats asséchés de zones temporairement inondables et l'éclosion des œufs se fait très rapidement en cas de submersion. Ce sont des moustiques diurnes, agressifs, piquant à l'extérieur (exophagie) avec une portée de vol pouvant atteindre plusieurs dizaines de kilomètres en se laissant entraîner par le vent. *Ae. vexans* est un moustique cosmopolite très répandu rencontré principalement dans les prairies inondées. Ces trois espèces ont pu être suspectées d'être vecteur du virus West Nile, mais leur rôle paraît nul ou négligeable en raison de leur faible attractivité pour les oiseaux et d'une très faible compétence vectorielle pour ce virus [5, 6]. Il a par ailleurs été rapporté que *Ae. (O) detritus* serait compétent pour la transmission du virus de l'encéphalite japonaise [10]. Cette observation demande toutefois à être confirmée car ce virus est transmis par des moustiques du genre *Culex*, le vecteur principal étant

Cx. tritaeniorhynchus. *Ae. (O) caspius* peut héberger le virus Usutu bien que son rôle dans la transmission de ce virus ne soit pas établi [11] et *Ae. vexans* est un vecteur pour le virus Tahyna.

Aedes aegypti est le principal vecteur de la fièvre jaune, de la dengue et du chikungunya. Originaire d'Afrique, il s'est répandu dans la plupart des régions tropicales et subtropicales. C'est un moustique très inféodé à l'Homme, on le trouve donc essentiellement en zones urbaines et il s'agit d'un moustique qui peut vivre, se reproduire et piquer à l'intérieur des habitations. C'est une espèce à activité diurne. Des cas de fièvre jaune sur le territoire métropolitain ont jadis été attribués l'introduction de *Ae. aegypti* dans des ports (Bordeaux, Brest, Marseille, St-Nazaire...) mais le moustique ne s'est pas implanté [12]. La sensibilité des œufs au gel maintient ce moustique dans les zones tropicales et subtropicales et il est admis que ce virus peut coloniser les régions comprises entre les isothermes 10 °C pour le mois de janvier dans l'hémisphère nord et de juillet pour l'hémisphère sud. *Ae. aegypti* pourrait donc survivre dans de nombreuses régions à climat méditerranéen ; il était d'ailleurs historiquement présent dans ces régions d'où il a été éradiqué vers le milieu du XX^e siècle. De plus, son caractère domestique lui conférant une protection pendant les périodes les plus froides, on a pu observer le maintien du moustique dans des zones connaissant des périodes de gel hivernal, dans le sud des États-Unis ou en Australie [13]. À la faveur du réchauffement climatique, l'implantation ou réimplantation d'*A. aegypti* dans des zones Européennes, y compris en France métropolitaine, est une hypothèse qui ne peut être totalement exclue, comme en témoigne l'implantation récente de *Ae. aegypti* en Californie, région à climat méditerranéen [14].

Ae. albopictus (figure 1), communément appelé « moustique tigre » est un moustique originaire du sud-est asiatique, mais c'est une espèce invasive présente maintenant sur tous les continents, allant des zones équatoriales aux zones tempérées. En effet, contrairement à *Ae. aegypti*, les œufs de ce moustique peuvent résister au froid hivernal avec éclosion des larves lorsque les températures redeviennent favorables. *Ae. albopictus* paraît pouvoir s'implanter dans les zones où la température moyenne du mois le plus froid est supérieure à 0 °C, la température moyenne annuelle supérieure à 11 °C et les précipitations annuelles supérieures à 500 mm [15]. De telles conditions sont remplies sur une grande partie du territoire métropolitain. *Ae. albopictus* a commencé à s'implanter dans les Alpes Maritimes en 2004, a envahi en quelques années toutes les régions méditerranéennes et progresse vers le Nord et l'Ouest (figure 3). Dans le sud de la France, les conditions climatiques permettent l'activité du moustique pendant une période prolongée, entre mai et novembre.

Ae. albopictus est un moustique très adapté à l'environnement humain et urbain. C'est un moustique diurne, agressif, piquant à l'extérieur. Bien qu'anthropophile, il peut se nourrir chez diverses espèces de mammifères, mais également chez des oiseaux, des amphibiens ou des reptiles [16]. Ce vecteur paraît capable de transmettre de nombreux virus mais son rôle dans la transmission d'arboviroses humaines est reconnu uniquement pour les virus de la dengue, du chikungunya et Zika [16]. Son rôle en tant que vecteur possible du virus Usutu a été également évoqué [17].

Figure 3 – Implantation d'*Aedes albopictus* en France métropolitaine.

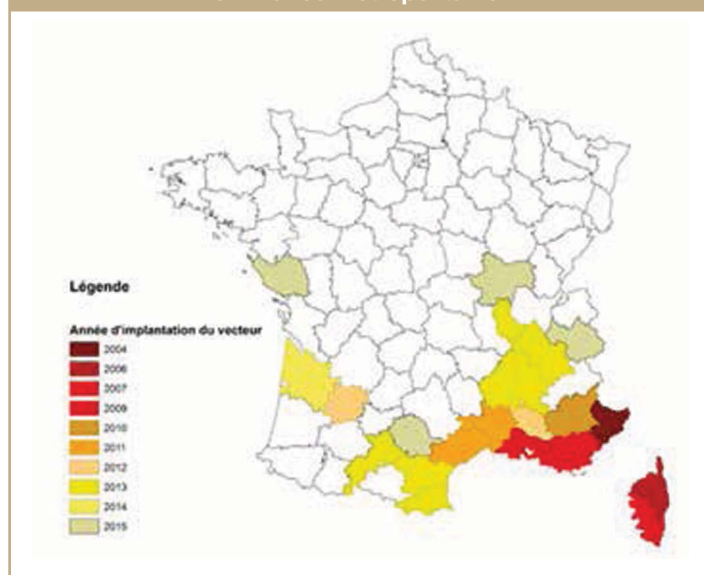
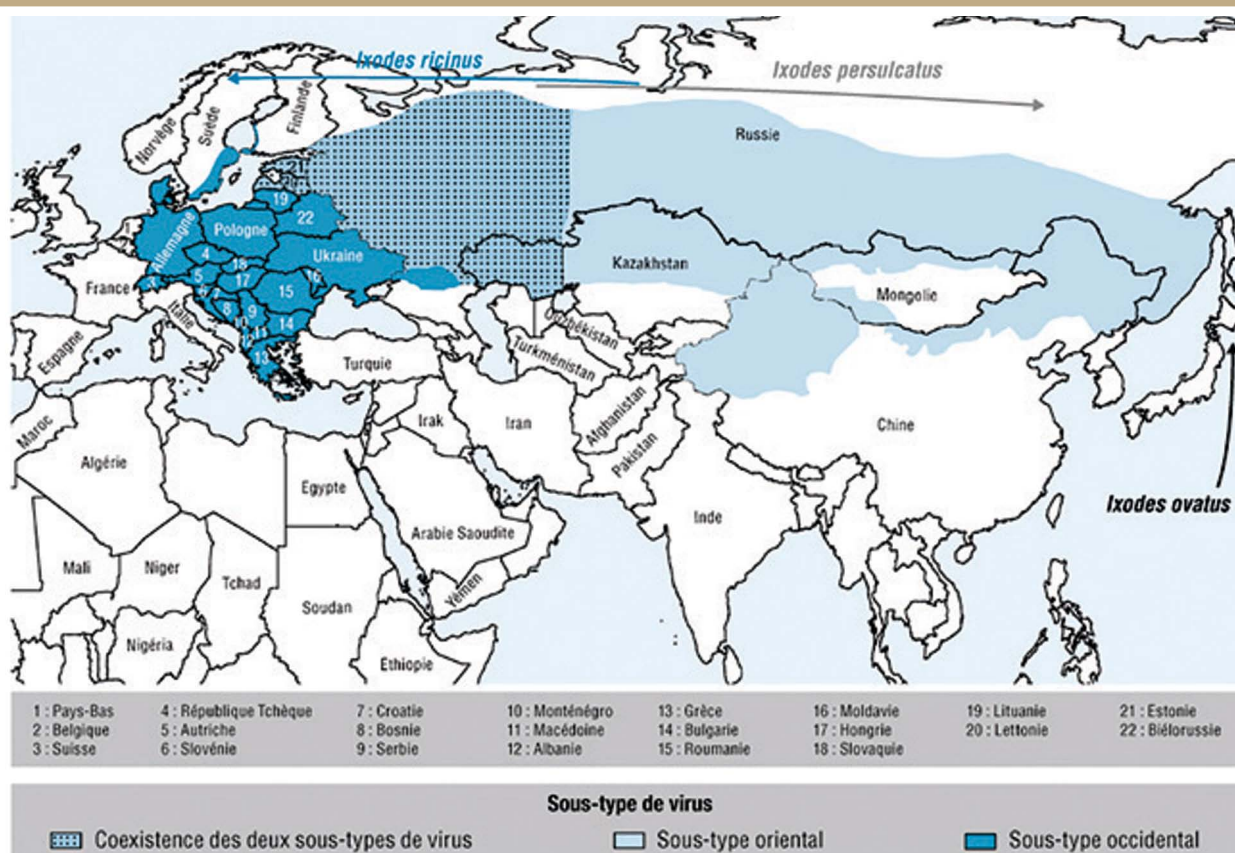


Figure 4 – Répartition géographique de l'encéphalite à tiques.

SOURCE : TBE Europe : <http://www.tbe-europe.com>

2.3.3. Genre *Anopheles*

Les moustiques du genre *Anopheles* sont essentiellement connus comme vecteurs du paludisme. En France métropolitaine on rencontre essentiellement *An. Astroparvus*, *An. maculipennis* et *An. Hyrcanus*, ce dernier étant essentiellement localisé dans les zones méditerranéennes [12]. Ces espèces étaient impliquées dans le paludisme sévissant autrefois à l'état endémique, en particulier sur le littoral méditerranéen. Les anophèles ne jouent qu'un rôle mineur dans les arboviroses humaines. En zone tropicale, le virus O'Nyong nyong est transmis par *An. gambiae* et *An. funestus*. En zone tempérée *An. hyrcanus* serait un vecteur du virus Tahyna [18] et *An. maculipennis* un vecteur du virus Usutu [11].

3. Arbovirus transmis par les tiques

3.1. Encéphalite à tiques

Le virus de l'encéphalite à tiques (*Tick-Borne Encephalitis Virus*, TBEV) parfois appelée encore méningo-encéphalite verno-estivale (MEVE) appartient à la famille des *Flaviviridae*. De nombreux mammifères sauvages et domestiques ainsi que les oiseaux peuvent être infectés par le virus mais ce sont les petits rongeurs qui constituent le principal réservoir de virus. Le virus est répandu en Europe Centrale, en Russie et jusqu'en Extrême-Orient.

On distingue 3 sous-types : le sous-type d'Europe occidentale, le sous-type sibérien et le sous-type extrême oriental. La transmission se fait par l'intermédiaire de tiques. En Europe occidentale et centrale c'est *I. ricinus* qui est le vecteur de la maladie, alors qu'en Russie et en Extrême-Orient, c'est *I. persulcatus*. L'infection, plus rarement, peut-être transmise par le lait cru d'animaux infectés.

Avec le sous-type européen, l'infection reste asymptomatique dans la majorité des cas. Les formes symptomatiques se traduisent par un syndrome pseudo-grippal apparaissant 1 à 2 semaines après la morsure de tique. Dans 5 à 15 % des cas une atteinte du système nerveux central survient après une courte rémission. Cette méningo-encéphalite est de sévérité variable, le taux de mortalité est de l'ordre de 1 % mais des séquelles neurologiques peuvent persister dans environ 10 % des cas. Les formes liées aux sous-types sibériens et extrême oriental sont en règle générale plus sévères avec une mortalité de l'ordre de 20-30 % et des séquelles persistant chez la majorité des individus survivants.

Le virus est présent en France dans la région Nord-Est (Alsace, Lorraine, Franche-Comté), mais le nombre de cas observés est faible. Une étude réalisée en Lorraine montrait une séroprévalence de l'ordre de 2 % dans la population [19]. L'encéphalite à tiques est considérée comme une maladie en extension en Europe avec une incidence multipliée par 4 en 30 ans et de nouveaux foyers de la maladie identifiés [20]. Le nombre de cas autochtones,

actuellement très limité pourrait donc augmenter dans les années à venir.

Les risques sont surtout liés au travail ou activités de plein air en milieu forestier. La prévention repose sur la protection contre les morsures de tiques (vêtements, répulsifs, extraction de la tique). La vaccination peut être recommandée en cas de séjour avec activités de plein air (camping, randonnée...) dans les régions de forte incidence (Europe centrale, Balkans, Pays Baltes). Deux vaccins inactivés sont disponibles en France (Ticovac® et Encepur®). La vaccination repose sur 3 injections. Des rappels peuvent être administrés tous les 3 à 5 ans en cas d'exposition persistante.

Le diagnostic de la maladie repose essentiellement sur le sérodiagnostic avec la mise en évidence d'IgM spécifiques du virus.

4. Arbovirus transmis par les phlébotomes

4.1. *Phlebovirus*

Le genre *Phlebovirus* appartient à la famille des *Bunyaviridae* et compte plus de 60 sérotypes qui se répartissent en 2 groupes: le groupe «*sandfly fever*» (fièvre à phlébotomes) qui comprend des virus transmis par des phlébotomes ou des moustiques (virus de la fièvre de la vallée du Rift) et le groupe Ukuniemi comportant des virus transmis par des tiques. Parmi les virus du groupe *sandfly fever*, les virus responsables d'infections humaines se regroupent dans les sérocomplexes «Naples» et «Sicile» [21]. Ces virus se rencontrent dans les régions méditerranéennes et le virus Toscana (TOSV) appartenant au sérocomplexe Naples est un virus émergent dans une zone allant du Portugal à la Grèce [22]. La présence du TOSV est bien documentée en France. Dans une série de cas chez des patients hospitalisés à Marseille, l'infection survenant essentiellement entre juin et septembre se manifestait par de la fièvre et des signes neurologiques (méningite, encéphalite) ou musculaires, avec une évolution toujours favorable [23]. Les formes asymptomatiques ou paucisymptomatiques sont probablement assez fréquentes, une étude chez les donneurs de sang a montré une séroprévalence du TOSV de 12 % dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et Corse [24].

5. Virus transmis par les moustiques

5.1. Virus de la dengue (DENV)

La dengue représente l'arbovirose la plus fréquente à l'échelon mondial. On estime à environ 100 millions par an le nombre de cas de dengue symptomatiques dans le monde et, en tenant compte des formes asymptomatiques, on estime à environ 400 millions le nombre annuel d'infections [25]. L'incidence de la dengue a fortement progressé ces dernières décennies. Elle est considérée comme endémique dans une centaine de pays situés dans la zone intertropicale, elle a émergé dans de nouvelles contrées ou ré-émergé dans des contrées où elle avait

disparu. Le nombre de cas de dengue sévère est d'environ 500 000 par an, le nombre de formes fatales étant de l'ordre de 20 000 [26].

L'incubation de la dengue est de 4 à 7 jours en moyenne, avec un maximum de 14 jours. La forme classique (fièvre dengue) se traduit par une fièvre souvent élevée accompagnée d'algies (céphalées, douleurs rétro-orbitaires, arthralgies, myalgies). Des signes digestifs et/ou un rash cutané sont souvent présents. Les formes sévères sont représentées par les formes hémorragiques avec ou sans syndrome de choc, responsables de la mortalité observée. On distingue 4 sérotypes de DENV (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4). Il existe de fortes réactions sérologiques croisées entre ces 4 sérotypes mais les anticorps neutralisants, protecteurs, sont spécifiques de type, ce qui fait que l'infection par un sérotype ne protège pas contre une infection ultérieure par un autre type, mais pourrait au contraire favoriser la survenue d'une forme sévère par un mécanisme de facilitation dépendante des anticorps.

Le réservoir de virus est l'homme lui-même, il n'y a pas de réservoir animal. Le vecteur principal de la dengue est *Ae. Aegypti*, responsable des formes endémiques et épidémiques de dengue survenant dans les zones tropicales. *Ae. albopictus* représente un vecteur secondaire. L'implantation de ce moustique dans des zones tempérées est à l'origine de transmissions autochtones en France métropolitaine à partir de cas importés. Les 2 premiers cas autochtones de dengue ont été observés en 2010 à Nice (Alpes Maritimes). En 2013, un cas a été identifié à Aix-en-Provence (Bouches-du-Rhône). En 2014, 4 cas ont été observés: 2 cas non liés (sérotypes différents) à Toulon (Var) et 2 cas liés à Aubagne (Bouches-du-Rhône). En 2015 ce sont 6 cas qui ont été diagnostiqués à Nîmes. De 2010 à 2015, ce sont donc 13 cas autochtones qui ont été identifiés, presque toujours observés durant les mois d'août et septembre.

Le diagnostic de la dengue repose sur la détection de l'ARN viral dans le sang (plasma ou sérum) et/ou la mise en évidence d'anticorps (IgM). La détection d'ARN viral par PCR en temps réel est à réaliser pendant les 7 jours suivant l'apparition des signes cliniques. Le sérodiagnostic est à réaliser à partir du 5^e jour. L'association de la détection d'ARN et du sérodiagnostic est donc recommandée entre le 5^e et le 7^e jour. En raison des réactions sérologiques croisées entre les 4 sérotypes de DENV et d'autres arbovirus, une confirmation par technique de séroneutralisation peut être nécessaire.

La détection d'antigène NS1 par technique ELISA ou par immunochromatographie permet également de détecter la présence du virus dans le sérum ou le plasma mais en raison de la sensibilité plus faible de ce test par rapport à la PCR, celui-ci n'est pas recommandé en première intention. Cependant, la Haute Autorité de Santé (HAS) dans un rapport de 2013 indique que ce test ne devrait être utilisé que dans un contexte épidémique et si la PCR n'est pas disponible. Ce test peut être alors réalisé en première intention sur les lieux de soins, pendant les 5 jours suivant l'apparition des signes cliniques. Un test positif permet de confirmer le diagnostic, mais si le test est négatif, la stratégie diagnostique doit être poursuivie selon les

recommandations : PCR jusqu'au 7^e jour et sérodiagnostic à partir du 5^e jour [27].

Une surveillance de la dengue est mise en place chaque année de mai à novembre dans les départements métropolitains où *Ae. albopictus* est implanté. Un diagnostic virologique et/ou sérologique doit être rapidement réalisé devant les cas suspects. Les cas confirmés, *a priori* importés, entraînent la mise en œuvre de mesures de prévention (démoustication ciblée) pour limiter les risques de propagation.

L'espoir de lutter contre la dengue au niveau mondial repose sur la vaccination et il existe une recherche active dans ce domaine. Un candidat vaccin ciblant les 4 types de virus a fait l'objet d'essais cliniques de phase 3. L'efficacité globale à 3 ans serait de l'ordre de 60 %, mais paradoxalement, il a été observé un taux d'hospitalisation pour dengue plus élevé chez les enfants vaccinés [28]. Ce vaccin commercialisé sous le nom de Dengvaxia® est enregistré au Brésil, Mexique, Philippines et Salvador. D'autres candidats vaccins sont en cours d'évaluation.

5.2. Virus West-Nile (WNV)

Le WNV a été isolé chez l'Homme en 1937 dans le district de West Nile en Ouganda. Il appartient à la famille des *Flaviviridae*. C'est un virus dont les hôtes naturels et réservoirs sont les oiseaux sauvages ou domestiques, les oiseaux migrateurs jouant un rôle essentiel dans la dissémination géographique du virus. Les vecteurs du WNV sont des moustiques ornithophiles appartenant principalement au genre *Culex*. Des moustiques pouvant se nourrir à la fois

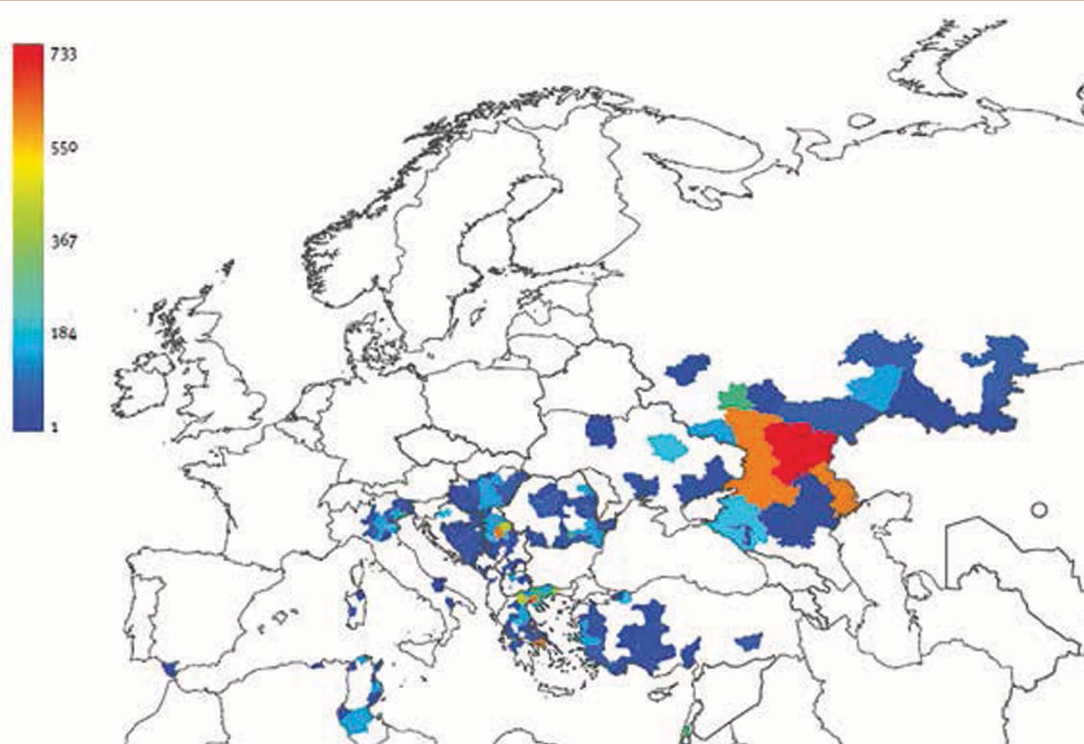
sur des oiseaux et des mammifères (moustiques passe-relles) permettent le passage du virus chez ces derniers. Parmi les mammifères, ce sont le cheval et l'Homme qui sont les plus sensibles à l'infection par le WNV. Ils ne représentent toutefois que des hôtes accidentels à partir desquels il n'y a pas de transmission secondaire.

Le WNV est un virus cosmopolite retrouvé sur tous les continents. Le continent américain est resté indemne de WNV jusqu'à une période récente. Le virus a toutefois été identifié à New York en 1999 et il s'est répandu en quelques années sur la quasi-totalité du territoire américain. Il s'est également répandu au Canada, dans les Caraïbes, en Amérique Centrale et Amérique du Sud.

Des infections à WNV peuvent être observées en période estivale dans les pays du pourtour méditerranéen. Des cas sont observés épisodiquement dans la plupart des pays d'Europe méridionale tels que la Grèce, l'Italie, le Portugal, l'Espagne ou les pays balkaniques (figure 5).

En France, la présence du WNV a été démontrée en Camargue au début des années 60, aussi bien chez l'Homme que chez le cheval [29, 30]. Les symptômes observés chez le cheval, connus de longue date dans la région sous le nom de « lourdige », ainsi que l'observation de fièvres estivales ou la description dans la première moitié du XX^e siècle d'encéphalites sévères en Camargue et en Languedoc suggéraient une existence ancienne du virus dans la région. La présence du virus n'a plus été retrouvée à partir de 1965, probablement en raison des grandes campagnes de démoustication pour aménagements touristiques, mais les enquêtes

Figure 5 – Nombre de cas cumulés d'infections à virus West Nile en Europe.



Source : European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

séroépidémiologiques menées entre 1975 et 1979 montraient une séroprévalence de 4,9 % chez l'homme et 2 % chez les chevaux [31].

Le virus est réapparu en septembre 2000 avec observation de cas équins dans les départements de l'Hérault et du Gard, dans le secteur appelé « petite Camargue ». Les recherches menées sur des chevaux présentant des signes neurologiques ont permis d'identifier une infection WNV chez 76 chevaux, entraînant la mort de 21 d'entre eux [32]. Des cas humains n'ont toutefois pas été observés lors de cette épidémie.

En 2003 des cas humains (7 cas) et équins (4 cas) ont été observés dans le département du Var [33].

Une nouvelle épidémie s'est déclarée en Camargue en 2004, avec 32 cas équins confirmés dont 7 mortels. En 2006, 5 cas équins dont un mortel ont été identifiés dans le département des Pyrénées-Orientales.

En août et septembre 2015, plusieurs cas équins ont été observés dans l'Hérault, le Gard et les Bouches-du-Rhône et un cas humain sans gravité a été identifié à Nîmes.

Le WNV est donc présent depuis longtemps dans la région Méditerranéenne, en particulier entre l'Hérault et les Bouches-du-Rhône avec des réémergences périodiques conduisant à la survenue d'épidémies chez les chevaux et de cas humains.

L'infection WNV est habituellement inapparente chez les oiseaux. Toutefois, une surmortalité peut s'observer avec certaines espèces (corvidés en Amérique, cigognes et oies en Israël) et certaines souches virales en relation avec une plus grande virulence.

Chez le cheval, un syndrome pseudo-grippal survient dans 20 % des cas. Une forme neuro-invasive de type encéphalomyélite peut être observée chez 10 % des chevaux infectés. On peut observer un syndrome parésique inférieur conférant à l'animal une démarche ébrieuse caractéristique (lourdiges). La mortalité de cette encéphalomyélite est de l'ordre de 30 à 40 %.

Chez l'Homme, l'infection reste asymptomatique dans la majorité des cas. Dans 20 % des cas environ on observe un syndrome pseudo-grippal avec fièvre, algies, signes digestifs pouvant s'accompagner d'un rash cutané et/ou des adénopathies. La durée d'incubation est de 3 à 14 jours. Les complications neurologiques (méningite, encéphalite, syndrome de Guillain-Barré) s'observent dans moins de 1 % des cas. La guérison de ces formes neuro-invasives peut demander des semaines ou des mois et des séquelles motrices sont possibles. La mortalité peut atteindre 10 %, ces cas mortels étant principalement observés chez les sujets âgés.

Enfin, il convient de signaler qu'à côté de la transmission par les moustiques, des cas de transmission transfusionnelle et par transplantations d'organe ont pu être observés lors de l'épidémie aux USA [34].

Le diagnostic d'une infection à WNV repose sur la détection d'ARN viral et/ou la détection d'anticorps spécifiques. Chez l'Homme, la virémie est brève et peu intense et la recherche d'ARN viral dans le sang au moment des signes cliniques se révèle fréquemment négative. De même, la recherche d'ARN dans le LCR au cours des formes neuro-invasives a une faible sensibilité. La recherche du virus dans les urines est plus sensible en raison d'une

excrétion plus prolongée et d'une charge virale plus élevée que dans le plasma ou le LCR [35]. La détection des anticorps spécifiques se positive rapidement à l'apparition des signes cliniques et le diagnostic d'infection WNV est souvent basé sur la positivité des IgM. Le problème majeur réside toutefois dans les réactions sérologiques croisées entre les différents flavivirus avec les techniques sérologiques de type ELISA et le recours à un test de séroneutralisation, du ressort des laboratoires spécialisés, est indispensable à la confirmation sérologique du diagnostic. La détection d'anticorps spécifiques dans le LCR est un élément important pour le diagnostic des formes neuro-invasives.

Une surveillance épidémiologique des infections WNV est mise en place chaque année de mai à novembre dans les départements de la façade méditerranéenne, avec volets de surveillance humaine, équine, ornithologique et entomologique.

5.3 Virus Usutu

Le virus Usutu est un virus appartenant à la famille des *Flaviviridae* et au sérocomplexe « encéphalite japonaise ». Il est d'origine africaine, infecte les oiseaux et est transmis par des moustiques appartenant en particulier au genre *Culex*. Ce virus a été retrouvé en Europe au début des années 2000, entraînant une mortalité notable chez différentes espèces d'oiseaux, les merles en particulier. Il a été d'abord identifié en Autriche en 2001, puis dans la plupart des pays Européens [36]. En Août 2015 le virus a été la cause d'une mortalité anormale d'oiseaux dans le département du Haut-Rhin, il s'agit de la première notification en France. Ce virus a longtemps été considéré comme non pathogène pour l'homme. Toutefois, 2 cas d'infection avec atteinte neurologique ont été décrits en 2009 en Italie chez deux patients immunodéprimés, un de ces patients développant par ailleurs une hépatite fulminante [37]. D'autres cas d'atteintes neuro-invasives de type méningoencéphalite ont été observés en Europe et il semble que le tableau clinique soit assez similaire à celui des infections à virus West-Nile [38], les 2 virus pouvant par ailleurs co-circuler et être transmis par les mêmes vecteurs [7]. La survenue de cas humains en France paraît donc tout à fait possible.

5.4. Virus Zika (ZIKV)

Le virus Zika, appartenant à la famille des *Flaviviridae*, tire son nom de la forêt de Zika en Ouganda où il a été identifié en 1947 chez des singes Rhésus. Des infections humaines sporadiques ont été identifiées par la suite dans des pays Africains ou Asiatiques. La première épidémie due à ce virus a été observée en 2007 en Micronésie, sur l'île de Yap où l'on estime que les 3/4 de la population ont été infectés. Des épidémies ont été ensuite observées en Polynésie Française en 2013 et en Nouvelle Calédonie en 2014. Le virus a diffusé au Brésil en 2015 avec une épidémie explosive, puisque fin 2015, on estimait le nombre de cas au Brésil à 1,5 million avec propagation de l'épidémie à la plupart des états d'Amérique du Sud, Amérique Centrale et Caraïbes. En 2016, ZIKV est considéré comme une menace à l'échelle mondiale.

Le virus est transmis par différences espèces de moustiques du genre *Aedes* pour la forme selvatique chez les singes. Chez l'Homme c'est *Ae. aegypti* qui est responsable des épidémies en Océanie et sur le continent Américain. *Ae. albopictus* paraît également compétent pour transmettre le virus, au moins pour les souches d'origine Africaine [39, 40]. Les zones colonisées par *Ae. albopictus*, y compris la France, pourraient donc connaître des transmissions autochtones à partir de cas importés [41].

L'infection par le ZIKV est habituellement bénigne. On considère que l'infection reste asymptomatique dans 80 % des cas et les formes patentes se traduisent classiquement par un syndrome fébrile avec éruption maculo-papuleuse, arthralgies et conjonctivite. Des formes plus graves sous forme de syndrome de Guillain-Barré ou de méningo-encéphalites ont été rapportées [42, 43]. L'infection par le ZIKV présente toutefois une gravité particulière chez la femme enceinte. L'épidémie Brésilienne s'est en effet accompagnée d'une augmentation particulièrement significative de cas de microcéphalie chez les fœtus et les nouveau-nés. Rétrospectivement, des malformations neurologiques fœtales et des dysfonctionnements du tronc cérébral chez les nouveaux nés ont été identifiés également en Polynésie. Le virus est transmissible *in-utero*. Il a été également retrouvé dans le sperme et la transmission par voie sexuelle est avérée. Le premier cas de transmission autochtone recensé en France est d'ailleurs le fait d'une transmission sexuelle [44]. L'importance de cette voie de transmission par rapport à la transmission vectorielle reste encore à déterminer. La transmission transfusionnelle du ZIKV au Brésil a été également rapportée.

En raison des risques épidémiques majeurs et de la gravité potentielle de l'infection chez les femmes enceintes, le ZIKV est considéré comme une menace à l'échelle mondiale, prise particulièrement au sérieux par les autorités sanitaires.

Le diagnostic de l'infection repose sur la détection de l'ARN viral dans les tout premiers jours qui suivent l'apparition des signes cliniques. La phase virémique est brève mais on observe une excrétion urinaire plus prolongée. D'après l'avis n° 2016.0022AC/SEAP de la Haute Autorité de Santé (HAS), il est recommandé de rechercher une virémie dans le plasma ou le sérum pendant les 7 jours suivant l'apparition des signes cliniques, ce délai étant prolongé à 10 jours pour la détection de l'ARN viral dans les urines. Ces recommandations sont susceptibles d'évoluer en fonction des données recueillies.

Les anticorps apparaissent environ 5 jours après le début des signes cliniques, avec présence d'IgM. Cependant le diagnostic sérologique est compliqué en raison des réactions croisées avec d'autres flavivirus, les virus de la dengue en particulier. Les comparaisons de titre d'anticorps vis-à-vis de différents flavivirus et le recours à une technique de séroneutralisation sont souvent nécessaires pour un sérodiagnostic plus spécifique.

D'après les données de l'Agence Nationale de Santé publique, la surveillance virologique des infections à ZIKV en France métropolitaine a permis, entre les mois de janvier et août 2016, de confirmer une infection chez

766 personnes revenant de zones de circulation du virus. Parmi ces personnes 19 étaient des femmes enceintes et 3 cas de complications neurologiques ont été recensés. Durant cette période, 8 cas d'infection par transmission sexuelle ont été confirmés en métropole. A ce jour (août 2016) aucun cas de transmission vectorielle autochtone n'a été observé.

5.5. Virus Tahyna (TAHV)

Identifié dans la ville de Tahyna (Slovaquie) en 1958, TAHV appartient au genre *Orthobunyavirus* et au séro groupe California. Il est très proche du virus de l'encéphalite de Californie (virus LaCrosse). C'est un virus cosmopolite, retrouvé en Afrique, en Asie et en Europe. Il a été identifié en France dans la région Camarguaise dès les années 60 [45], et il semble surtout fréquent en Europe Centrale [46]. Le virus infecte diverses espèces animales et le réservoir est constitué par de petits mammifères (lièvres, lapins, hérissons, petits rongeurs). Il est transmis par différentes espèces de moustiques, en particulier des *Aedes* (*Ochlerotatus*). Il a été retrouvé également chez *Cx. modestus* et *An. hyrcanus*.

Ce virus est responsable d'un syndrome fébrile d'allure pseudo-grippale survenant en été, associé parfois à une broncho-pneumonie et, rarement, à une méningite ou encéphalite. L'infection est en règle générale bénigne et il n'a pas été rapporté de cas de mortalité. Le diagnostic repose essentiellement sur le sérodiagnostic, disponible seulement dans des laboratoires très spécialisés. La recherche d'ARN viral dans le sérum par PCR peut être positive en phase aiguë [47]. Le virus n'étant pas recherché en pratique courante et en l'absence d'enquêtes séro-épidémiologiques récentes, la fréquence des infections à TAHV sur le territoire Français reste largement inconnue. Une enquête séro-épidémiologique menée dans la région camarguaise entre 1975 et 1979 avait toutefois retrouvé la présence d'anticorps chez 31 % des individus testés [31], ce qui laisse supposer une transmission active du virus dans cette région.

5.6. Virus du chikungunya (CHIKV)

Le CHIKV appartient à la famille des *Togaviridae* et au genre *Alphavirus*. Le virus a été isolé en 1952 au cours d'une épidémie survenue en Tanzanie. Le terme chikungunya qui signifie en langue Makondée « homme courbé » traduit l'atteinte articulaire caractéristique de cette infection.

En Afrique et en Asie, le réservoir de virus est constitué par des primates. Des petits mammifères et des oiseaux pourraient également intervenir dans le cycle selvatique. En période épidémique, c'est l'Homme qui constitue le réservoir de virus. La transmission interhumaine est assurée par des moustiques du genre *Aedes* : *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*. Les analyses moléculaires ont montré que la présence d'une mutation sur le gène d'enveloppe E1 (A226V) augmentait considérablement la transmission du virus par *Ae. albopictus*, alors que les souches ne présentant pas cette mutation ne sont pratiquement transmises que par *Ae. aegypti* [48].

Sur le plan clinique, le chikungunya est caractérisé par l'importance de l'atteinte articulaire. L'incubation est de 5 à 7 jours en moyenne (extrêmes : 2-14 jours).

La maladie se traduit par une fièvre, souvent élevée, accompagnée d'arthralgies périphériques (poignets, mains, chevilles, pieds...) pouvant être intenses et invalidantes, de céphalées et de myalgies. Une éruption, une conjonctivite ainsi que des manifestations hémorragiques mineures (gingivorragies, épistaxis) peuvent être observées. Le tableau clinique est souvent proche de celui de la dengue, les manifestations articulaires étant toutefois généralement plus intenses. Dans la majorité des cas, la maladie évolue favorablement en quelques jours. Néanmoins, on peut observer des formes subaiguës et chroniques avec persistance des manifestations articulaires pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois ou années. Les complications neurologiques de type encéphalite ont été décrites principalement chez les nourrissons ou les sujets âgés, avec un taux de létalité supérieur à 15 % [49]. La survenue de syndromes de Guillain-Barré a été également associée au chikungunya [50]. En cas d'infection pendant la grossesse, une transmission mère-enfant peut survenir, essentiellement chez les mères virémiques au moment de l'accouchement. Le taux de transmission dans ces conditions est de l'ordre de 50 % et cette transmission est souvent associée à une forme néonatale sévère [51]. Dans les formes graves de l'enfant, en plus des atteintes neurologiques, il a pu être observé des dermatoses bulleuses extensives, des complications cardiaques et des formes hémorragiques [52]. Le taux de mortalité globale du chikungunya est de l'ordre de 1 pour mille. Ce taux est cependant plus élevé aux âges extrêmes de la vie.

Jusqu'à une période récente, les infections à CHIKV sévissaient sur un mode endémo-épidémique en Afrique et en Asie du Sud-Est. En 2005-2006, suite à une introduction depuis le Kenya, une circulation intense du virus a été observée dans l'Océan Indien (Madagascar, Comores, Réunion, Maurice, Seychelles) et en Inde. L'île de la Réunion a été fortement touchée avec plus de 250 000 cas recensés en quelques mois, soit le tiers des habitants de l'île [53]. L'épidémie en Océan Indien était due à une souche de virus portant la mutation A226V, et donc transmissible par *Ae. albopictus*.

Fin 2013, le virus a été détecté sur le continent Américain. Les premiers cas ont été observés sur l'île de Saint-Martin. En 2014, l'épidémie a touché les départements Français d'Amérique (Guadeloupe, Martinique, Guyane), l'ensemble des Caraïbes, les États-Unis (Floride), l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud.

En Europe, une épidémie s'est déclarée en 2007 dans la plaine du Pô en Italie à partir d'un cas importé en provenance d'Inde. Plus de 200 cas, dont un associé à un décès, ont été observés entre juillet et septembre [54]. En ce qui concerne les cas de chikungunya autochtones en France Métropolitaine, 2 cas ont été observés dans la région de Fréjus (Var) en août-septembre 2010 [55] et ce sont 12 cas qui sont survenus à Montpellier (Hérault) en septembre-octobre 2014 [56].

La surveillance des infections CHIKV est mise en œuvre chaque année dans les départements d'implantation de *Ae. albopictus* selon les mêmes modalités que pour la dengue.

Il convient également de préciser qu'en cas de suspicion de dengue, de Zika ou de Chikungunya chez un patient

ayant séjourné dans une zone où les différents virus peuvent circuler, il est recommandé d'associer systématiquement le diagnostic moléculaire et/ou sérologique pour ces trois arboviroses.

5.7 Autres arbovirus

Bien que son rôle de vecteur soit reconnu seulement pour les virus DENV, CHIKV et ZIKV, *Ae. albopictus* a été décrit comme un vecteur potentiel de nombreux arbovirus avec entre autres les virus de la fièvre jaune, de l'encéphalite japonaise, de l'encéphalite de St-Louis, des encéphalites équine, des virus d'encéphalite du groupe Californie ou de la fièvre de la vallée du Rift [16]. *Ae. (Ochlerotatus) detritus*, a été décrit comme un vecteur potentiel du virus de l'encéphalite japonaise [10].

Le virus Crimée-Congo, responsable d'une fièvre hémorragique potentiellement fatale est présent dans certaines contrées européennes (Bulgarie, Grèce, Albanie, Kosovo), ainsi qu'en Russie et en Turquie. Le virus est transmis par une tique du genre *Hyalomma* présente dans le sud de la France. La survenue de cas en France métropolitaine, avec transmissions autochtones ne peut être exclue [57]. Il convient de signaler que un cas fatal de fièvre Crimée-Congo vient d'être observé (août 2016) en Espagne chez une personne n'ayant pas voyagé et un deuxième cas a été observé chez une infirmière ayant soigné ce patient. Une investigation épidémiologique est en cours. La présence du virus chez des tiques en Espagne avait été observée dès 2010 [58].

Ainsi, bien que le risque épidémique paraisse très faible à ce jour, l'hypothèse de la transmission d'autres arboviroses par les vecteurs existant sur le territoire métropolitain reste une hypothèse plausible.

6. Conclusion

Des arboviroses considérées jusqu'à ces dernières années comme des maladies tropicales sont devenues maintenant des maladies à risque autochtone. La raison majeure de cette situation est la colonisation du territoire métropolitain par *Ae. albopictus* qui est un vecteur pour les virus de la dengue, du chikungunya et du virus Zika. Une autre raison est l'extension épidémique parfois explosive de ces infections dans différentes parties du monde avec une probabilité accrue de cas importés et donc d'une transmission autochtone secondaire.

Même si jusqu'à présent le nombre de cas d'arboviroses humaines autochtones reste limité, la vigilance est de mise et les autorités sanitaires mettent tout en œuvre, pendant la période d'activité des vecteurs, pour identifier rapidement l'apparition de cas et prendre les mesures qui s'imposent pour limiter le risque de transmission. Cette situation a par ailleurs des répercussions sur l'activité des laboratoires qui sont amenés à intégrer dans leur pratique quotidienne le diagnostic de ces infections, alors que jusqu'à présent, en dehors des régions tropicales, le diagnostic des arboviroses était réservé à des laboratoires spécialisés de référence.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Ariel E. Viruses in reptiles. *Vet Res* 2011, 42:100
- [2] Guiguen C, Degeilh B. Les tiques d'intérêt médical : rôle vecteur et diagnose de laboratoire. *Revue Française des Laboratoires* 2001, 338: 49-57.
- [3] Rageau J, Mouchet J, Abonnenc E. Répartition géographique des moustiques (*Diptera: Culicidae*) en France. *Cah ORSTOM sér Ent méd Parasitol* 1970, 8:289-317 (http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/cahiers/entomo/18911.pdf)
- [4] Coutin R. Les moustiques : des insectes nuisibles présents partout. *Insectes* 1988, n°71:13-17 (<http://www7.inra.fr>).
- [5] Balenghien T, Fouque F, Sabatier P et al. Quels sont les vecteurs du virus West Nile dans le Sud de la France ? *Environnement, Risques et Santé* 2007, 6: 453-460.
- [6] Balenghien T, Vazeille M, Grandadam M et al. Vector competence of some French *Culex* and *Aedes* mosquitoes for West Nile virus. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008, 8:589-595.
- [7] Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R et al. Evidence of simultaneous circulation of West Nile and Usutu viruses in mosquitoes sampled in Emilia-Romagna region (Italy) in 2009. *PLoS One* 2010, E: e14324
- [8] Moutailler S, Krida G, Schaffner F et al. Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean region. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008, 8: 749-743.
- [9] Ponçon N, Balenghien T, Toty C et al. Effects of local anthropogenic changes on potential malaria vector *Anopheles hyrcanus* and West-Nile virus vector *Culex modestus*, Camargue, France. *Emerg Infect Dis* 2007, 12: 1810-1815.
- [10] Mackenzie-Impoinvil L, Impoinvil DE, Galbraith SE et al. Evaluation of a temperate climate mosquito, *Ochlerotatus detritus* (= *Aedes detritus*), as a potential vector of Japanese encephalitis virus. *Med Vet Entomol* 2015, 29: 1-9.
- [11] Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R et al. Usutu virus persistence and West Nile virus inactivity in the Emilia-Romagna region (Italy) in 2011. *PLoS One* 2013, 8:e63978.
- [12] Rageau J, Mouchet J, Abonnenc E. Répartition géographique des moustiques (*Diptera: Culicidae*) en France. *Cah. ORSTOM Entomol Med Parasitol* 1970; 8: 289-317.
- [13] Jansen CC, Beebe NW. The dengue vector *Aedes aegyptii*: what comes next. *Microbes Infect* 2010, 12: 272-279.
- [14] Cole-Porse C, Kramer V, Yoshimizu MH et al. Public health response to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes invading California, USA. *Emerg Infect Dis* 2015, 21: 1827-1829.
- [15] Roiz D, Neteler M, Castellani C et al. Climatic factors driving invasion of the tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in new areas of Trentino, Northern Italy. *PLoS One* 2011, 6: e14800
- [16] Paupy C, Delatte H, Bagny L, et al. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes and Infection* 2009, 11: 1177-1185.
- [17] Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R et al. Evidence of simultaneous circulation of West Nile and Usutu viruses in mosquitoes sampled in Emilia-Romagna region (Italy) in 2009. *PLoS One* 2010, 5:e14324.
- [18] Hubalek Z, Sebesta O, Pesko J et al. Isolation of Tahyna virus (California encephalitis group) from *Anopheles hyrcanus* (*Diptera, Culicidae*), a mosquito species new to, and expanding in, Central Europe. *J Med Entomol* 2014, 51: 1264-1267.
- [19] Schuhmacher H, Hoen B, Baty V et al. Séroprévalence de l'encéphalite à tiques d'Europe Centrale en Lorraine. *Presse Med* 1999, 28:221-224.
- [20] Donoso Mantke O, Escadafal C, Niedrig M et al. Tickborne encephalitis in Europe, 2007 to 2009. *Euro Surveill.* 2011, 16:pii=19976.
- [21] Nichol ST, Beaty BJ, Elliott RM, et al. Genus *Phlebovirus*. In: Faguet CM, Mayo MA, Maniloff J, et al., editors, *Virus Taxonomy: Eight report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005. p.709-711.
- [22] Charrel RN, Bichaud L, de Lamballerie X. Emergence of the Toscana virus in the mediterranean area. *World J Virol* 2012, 1:135-141.
- [23] Dupouey J, Bichaud L, Ninove L et al. Toscana virus infections: a case series from France. *J Infect* 2014, 68: 290-295.
- [24] Brisbarre N, Attoui H, Gallian P. et al. Seroprevalence of Toscana virus in blood donors, France, 2007. *Emerg Infect Dis* 2011, 17: 941-943.
- [25] Bhatt S, Gething PW, Brady OJ et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013, 496:504-507.
- [26] Murray NEA, Quam MB, Wilder-Smith A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. *Clinical Epidemiol* 2013, 5:299-309.
- [27] Haute Autorité de Santé. Rapport d'évaluation technologique - Diagnostic biologique précoce de la dengue par détection génomique du virus avec RT-PCR. Janvier 2013. <http://www.has-sante.fr>.
- [28] Hadinegoro SR, Arredondo-Garcia JL, Capeding MR et al. Efficacy and long-term safety of a dengue vaccine in regions of endemic disease. *N Engl J Med* 2015;373: 1195-1206.
- [29] Hannoun C, Panthier R, Mouchet J et al. Isolement du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *CR Acad Sci* 1964, 259: 4170-4172.
- [30] Panthier R, Hannoun C, Oudar J et al. Isolement du virus West Nile chez un cheval de Camargue atteint d'encéphalomyélite. *CR Acad Sci* 1966, 262:1308-1310.
- [31] Rollin PE, Rollin D, Martin P et al. Résultats d'enquêtes séro-épidémiologiques récentes sur les arboviroses en Camargue : populations humaines, équine, bovines et aviaires. *Med Mal Infect* 1982, 12: 77-80.
- [32] Murgue B, Murri S, Zientara S et al. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000 : the return after 35 years. *Emerg Infect Dis* 2001, 7: 692-696.
- [33] Mailles A, Dellamonica P, Zeller H et al. Human and equine West Nile virus infections in France. August-September 2003. *Eurosurveillance Weekly* 3003; 7: 23.
- [34] Iwamoto M, Jernigan DR, Guasch A et al. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2003, 34: 2196-2203.
- [35] Barzon L, Pacenti M, Franchin E et al. Excretion of West Nile virus in urine during acute infection. *J Infect Dis* 2013, 208: 1086-1092.
- [36] Ashraf U, Ye J, Ruan X et al. Usutu virus: an emerging flavivirus in Europe. *Viruses* 2015, 7:219-238.
- [37] Vazquez A, Jimenez-Clavero MA, Franco L et al. Usutu virus - potential risk of human disease in Europe. *Euro Surveill* 2011, 16: pii=19935.
- [38] Santini M, Vilibic-Cavlek T, Barbic L et al. First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013 : clinical and laboratory features. *J Neurovirol* 2015,21: 92-97.
- [39] Wong PS, Li MZ, Chong CS et al. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl Trop Dis* 2013 : 7:e2348.
- [40] Grard G, Caron M, Mombo IM et al. Zika virus in Gabon (Central Africa) 2007 : a new threat from *Aedes albopictus* ? *PLoS Negl Trop Dis* 2014, 8:e2681.
- [41] Maria AT, Maquart M, Makinson A et al. Zika virus infections in three travellers returning from South America and the Caribbean respectively, to Montpellier, France, December 2015 to January 2016. *Euro Surveill* 2016, 21 :pii=30131.
- [42] Oehler E, Watrin L, Larre P et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome. Case report, French Polynesia. *Euro Surveill* 2014, 19: pii=20720.
- [43] Carteaux G, Maquart M, Bedet A et al. Zika virus associated with meningoencephalitis. *N Engl J Med* 2016, 374:1595-1596.
- [44] D'Ortenzio E, Matheron S, de Lamballerie X et al. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *N Engl J Med* 2016, 374: 2195-2198.
- [45] Hannoun C, Panthier R, Corniou B. Isolation of Tahyna virus in the south of France. *Acta Virol* 1966, 10: 362-364.
- [46] Hubalek Z. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol Res* 2008 Suppl. 1, 103: S219-S43.

- [47] Li W, Cao Y, Fu S et al. Tahyna virus infection, a neglected arboviral disease in the Qinghai-Tibet plateau of China. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014, 14 : 353-357.
- [48] Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE et al. A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential. *PLoS Pathogen* 2007, 3: e201.
- [49] Gérardin P, Barau G, Michault A et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Réunion. *PLoS Med* 2008, 5: e60.
- [50] Lebrun G, Chadda K, Reboux AH et al. Guillain-Barré syndrome after chikungunya infection. *Emerg Infect Dis* 2009, 15 : 495-496.
- [51] Gérardin P, Couderc T, Bintner M et al. Chikungunya virus-associated encephalitis: a cohort study on La Réunion island, 2005-2009. *Neurology* 2016, 86 : 94-102.
- [52] Pellot AS, Alessandri JL, Robin S et al. Severe forms of chikungunya virus infection in a pediatric intensive care unit on Reunion island. *Med Trop* 2012, 72 Spec No.: 88-93.
- [53] Larrieu S, Balleydier E, Renault P et al. Epidemiological surveillance of chikungunya on Reunion island from 2005 to 2011. *Med trop* 2012, 72 Spec No. : 38-42.
- [54] Reza G, Nicoletti L, Angelini R et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet* 2007, 370 : 1840-1846.
- [55] Grandadam M, Caro V, Plumet S et al. Chikungunya virus, Southeastern France. *Emerg Infect Dis* 2011, 17 :910-913.
- [56] Delisle E, Rousseau C, Broche B et al. Chikungunya outbreak in Montpellier, France, september to october 2014. *Euro Surveill* 2015, 20 :pii=21108.
- [57] Mazeltou HC, Andonova L, Andraghetti R et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill* 2010, 15 :pii=19504.
- [58] Estrada-Peña A, Palomar AM, Santibanez P et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in ticks, Southwestern Europe 2010. *Emerg Infect Dis* 2012,18 :179-180.

Mesure et interprétation des charges virales dans les infections à herpèsvirus humains (cytomégalovirus, virus Epstein-Barr, herpèsvirus humains 6 et 8)

Marie-Christine Mazon^{a,b}, Corinne Amiel^{c,d}, Henri Agut^{d,e}

RÉSUMÉ

La mesure de la charge virale est un progrès important pour la compréhension physiopathologique, le diagnostic et le suivi thérapeutique des infections par le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr, les herpèsvirus humains 6 et 8. Les méthodes de PCR quantitative, en particulier la PCR en temps réel, ont rendu la mesure de l'ADN génomique sensible, reproductible, accessible et applicable à un grand nombre de matrices biologiques, au premier rang desquelles le sang total, le plasma et le liquide cébrospinal. Des améliorations sont cependant encore nécessaires en termes de standardisation des techniques et mise à disposition d'étalons de quantification internationalement reconnus. Il faut également préciser et homogénéiser les critères d'interprétation de la charge virale en ce qui concerne le diagnostic des infections actives, la prédiction de survenue des maladies associées, les indications des traitements antiviraux et le suivi de leur efficacité. La mesure de la charge virale à cytomégalovirus est actuellement devenue un élément essentiel de la surveillance des sujets immunodéprimés. En ce qui concerne le virus d'Epstein-Barr, la charge virale est utilisée pour anticiper la survenue des lymphoproliférations associées alors que la charge virale à HHV-8 n'a pas encore d'indications parfaitement précisées dans le diagnostic des maladies tumorales associées, au premier rang desquelles la maladie de Kaposi. Des valeurs très élevées de la charge virale à herpèsvirus humain 6 doivent faire évoquer, outre une réactivation virale intense, une intégration chromosomique de l'ADN viral, événement propre à ce virus et observé chez environ 1 % de la population générale.

ADN génomique - liquide cébrospinal - PCR temps réel - sang total - standardisation

a Service de Virologie

Assistance Publique-Hôpitaux de Paris,
Hôpital Saint-Louis,

b PRES Sorbonne Paris Cité

Université Paris Diderot, Inserm U941,
Laboratoire associé au Centre national de référence Cytomégalovirus

c Service de Virologie

Assistance Publique-Hôpitaux de Paris,
Hôpitaux Universitaires Est Parisien,
site Tenon

d Sorbonne Universités

Université Pierre et Marie Curie Paris 6,
CIMI-Paris, Inserm UMR 1135, Equipe 1 PVI

e Service de Virologie

Assistance Publique-Hôpitaux de Paris,
Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix,
Paris, France

* **correspondance**

henri.agut@aphp.fr

SUMMARY

Determination and interpretation of viral load in human herpesvirus infections (cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, human herpesviruses 6 and 8).

Measuring the viral load has provided a significant advance in the pathophysiological understanding, diagnosis and therapeutic monitoring of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 8 infections. The methods of quantitative PCR, especially real-time PCR, have made the quantification of DNA genome sensitive, reproducible, accessible and applicable to numerous biological matrices, among which whole blood, plasma and cerebrospinal fluid. However improvements are still required, in terms of standardization of techniques and disposal of internationally recognized quantification standards. It is also needed to clarify and homogenize the criteria for interpreting viral load values regarding the diagnosis of active infections, prediction of occurrence of associated diseases, indications of antiviral treatments and monitoring of their effectiveness. The measurement of viral load cytomegalovirus has now become an essential element in the monitoring of immunocompromised patients. Regarding Epstein-Barr virus, the viral load is used to anticipate the occurrence of associated lymphoproliferations while the viral load HHV-8 has still not perfectly specified indications in the diagnosis of associated malignancies, the first of which being Kaposi's sarcoma. Besides the possibility of an intense viral reactivation, very high values of viral load in the case of human herpesvirus 6 should evoke a chromosomal integration of viral DNA, specific to this virus and observed in about 1 % of the general population.

genomic DNA - cerebrospinal fluid - real time PCR - whole blood - standardization

1. Introduction

La quantité de virus présent dans un tissu ou un fluide biologique, appelée charge virale, est devenue un paramètre biologique essentiel pour le diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique des infections virales humaines. L'exemple le plus illustratif est actuellement l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) au cours de laquelle la mesure itérative de la charge virale plasmatique est l'examen virologique incontournable tant au moment de la primo-infection que dans le suivi des traitements antirétroviraux au long cours.

article reçu le 7 juin 2016, accepté le 30 septembre 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Dans le domaine des infections à herpèsvirus, l'intérêt pour la quantification virale est devenu majeur quand les méthodes moléculaires ciblant les acides nucléiques et fondées sur la PCR, spécifiques, rapides et relativement précises, ont remplacé les méthodes ciblant les particules virales infectieuses et fondées sur la culture virale, des méthodes certes de référence et pionnières en virologie mais lourdes, coûteuses, et d'efficacité incertaine. Cet intérêt était aussi concomitant avec l'utilisation élargie de la chimiothérapie antiherpétique. De fait, les infections à herpèsvirus étaient depuis longtemps en théorie une cible de choix pour la mise en œuvre de la quantification virale. En effet, ces infections persistent durant toute la vie de l'individu à bas bruit, concernent la majorité de la population générale et sont le plus souvent asymptomatiques sauf lorsqu'elles se réactivent, en particulier lors d'une immunodépression, et peuvent alors donner des maladies gravissimes. Dans ce contexte, le diagnostic virologique seulement qualitatif n'apporte qu'une contribution modeste à la prise en charge médicale des maladies associées et à l'évaluation de l'efficacité des traitements. L'avènement de la PCR en temps réel a bouleversé la quantification virale. Les infections de la peau, des muqueuses et du système nerveux central par les alphaherpèsvirus, virus herpes simplex (HSV) et virus varicelle-zona (VZV), ont relativement peu profité de son développement. En revanche, dans les infections systémiques par les bêtaherpèsvirus, cytomégalovirus (CMV) et herpèsvirus humain 6 (HHV-6), la quantification de l'ADN génomique viral dans le sang circulant est maintenant un élément essentiel d'analyse, de surveillance, de diagnostic et de décision thérapeutique, en particulier chez les sujets immunodéprimés. Il en est de même dans le cas des gammaherpèsvirus, virus d'Epstein-Barr (EBV) et herpèsvirus humain 8 (HHV-8) encore appelé herpèsvirus associé à la maladie de Kaposi (KSHV), pour lesquels l'ADNémie virale circulante est prédictive de la survenue de maladies cancéreuses associées à ces deux virus. On note que l'ADNémie, dans le cas de l'EBV et du HHV-8, correspond soit à la production de particules virales soit à la prolifération de cellules transformées porteuses du génome viral. Cette ambiguïté rappelle que, si la charge virale est mesurée grâce à des techniques de biologie moléculaire largement appliquées, elle doit être interprétée spécifiquement en fonction de l'herpèsvirus considéré, de la connaissance de sa physiopathologie, et des options thérapeutiques disponibles.

2. Méthodologie générale de mesure de la charge virale

Les cibles virales utilisables pour la quantification des virus sont celles utilisées pour leur détection qualitative. Ainsi, les particules virales ou virions sont détectables par leur morphologie lors de l'observation en microscopie électronique ou par leur pouvoir infectieux lors de l'inoculation en culture de cellules. Les protéines virales sont détectables par leurs propriétés antigéniques grâce à des anticorps monoclonaux. L'ADN bicaaténaire génomique des herpèsvirus, qui se trouve soit dans les particules virales, soit dans les noyaux des cellules infectées, est détectable grâce à l'hybridation moléculaire. C'est désormais la quantification de cet ADN qui est, de fait, la principale approche utilisée. La quantification des ARN messagers ou transcrits reste un objectif pertinent pour le diagnostic formel

d'une réactivation virale survenant à partir de l'état de latence mais nécessite encore des développements techniques pour gagner en spécificité et en sensibilité.

L'extraction des acides nucléiques est effectuée à partir d'un grand nombre de matrices biologiques différentes : sang total, fraction leucocytaire, plasma, liquide cébrospinal (LCS), urine, salive, lavage broncho-alvéolaire (LBA), biopsie tissulaire. La première étape est la lyse des particules virales et des cellules infectées par une combinaison d'agents chaotropiques, de détergents et d'enzymes protéolytiques. L'étape de purification des acides nucléiques met ensuite en jeu diverses combinaisons de réactions de précipitation sélective, de centrifugation et de séparation par affinité. Les techniques d'extraction ont considérablement évolué dans le sens d'une automatisation et d'une élimination plus efficace des inhibiteurs potentiels de la PCR, tels que l'hémoglobine. Cependant, c'est toujours un mélange d'acides nucléiques viraux et cellulaires qui est soumis à la réaction de quantification.

La quantification de l'ADN viral utilise le plus souvent la technique de PCR en temps réel. La spécificité de la réaction repose sur l'utilisation d'amorces strictement complémentaires de l'ADN du virus cible. La quantité de produits amplifiés est estimée, à tout moment de la réaction et sans ouvrir le tube réactionnel, par mesure de la fluorescence produite par une sonde spécifique. Le résultat concernant la charge virale de l'échantillon de départ est exprimé en nombre de copies du génome viral par référence à une gamme étalon externe. Plusieurs éléments annexes renforcent la robustesse de la méthode comme l'absence d'ouverture du récipient réactionnel après amplification, ce qui réduit le risque de contamination du laboratoire par de l'ADN amplifié et donc de faux positifs, l'inclusion de témoins internes de qualité d'extraction et d'absence d'inhibiteurs de PCR, et la mesure éventuelle du nombre de copies d'un gène cellulaire dans l'échantillon grâce à une PCR dédiée, ce qui permet l'expression finale de la charge virale en copies de génome par million de cellules. Des progrès restent à faire en termes de standardisation. Il est utile d'avoir recours à des trousseaux diagnostiques calibrés et validés, donnant des résultats reproductibles ainsi qu'à des étalons internationaux titrés qui facilitent les comparaisons entre laboratoires utilisant des techniques de quantification différentes. C'est pourquoi l'OMS a mis sur le marché des étalons de quantification permettant l'expression des résultats en unités internationales (UI), mais ceux-ci ne sont pas encore disponibles pour tous les herpèsvirus. Malgré ces progrès, la précision et la reproductibilité de la mesure de la charge virale, fondée sur l'amplification exponentielle de fragments d'ADN, ne sont pas absolues. Il importe, dans chaque cas, de définir la plus petite variation de charge qui, au-delà de la variabilité attendue de la méthode, indique un changement réel et significatif du niveau d'infection et/ou de multiplication du virus. Cela est particulièrement important quand on veut apprécier la dynamique d'évolution de la charge virale dans le cadre d'un suivi longitudinal de ce marqueur.

3. CMV

Le CMV est un bêtaherpès virus à tropisme cellulaire très large chez son hôte infecté. Il se réplique dans les cellules endothéliales, épithéliales, dendritiques, macrophages,

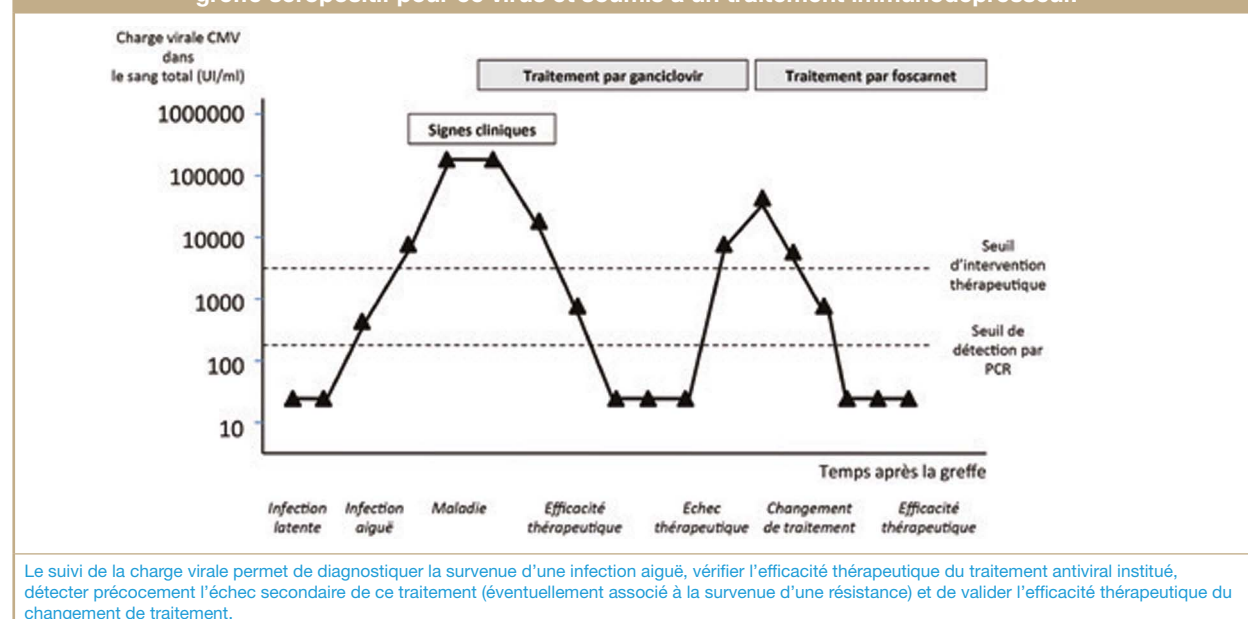
fibroblastes, cellules nerveuses, cellules musculaires lisses, hépatocytes. La dissémination du virus est hématogène. Les cellules endothéliales, les monocytes/macrophages et les polynucléaires y contribuent. Cependant, le virus ne se réplique dans aucun leucocyte du sang circulant. Après la primo-infection, le virus reste latent notamment dans les monocytes du sang périphérique et les progéniteurs CD34+ de la moelle osseuse qui constituent le réservoir du virus. La différenciation en macrophages ou cellules dendritiques des monocytes circulants qui hébergent le virus à l'état latent permet la réplication complète du virus. Le CMV est un virus ubiquitaire. La séroprévalence, fonction des conditions socio-économiques, est voisine de 50 % en France. Les manifestations cliniques de l'infection dépendent étroitement de l'état immunitaire de l'hôte [1]. Responsable d'infections habituellement bénignes chez l'hôte immunocompétent, le CMV est un agent opportuniste majeur chez les patients immunodéprimés chez qui des stratégies de prévention de l'infection ou de la maladie sont proposées. La nature des manifestations cliniques chez ces patients dépend du type d'immunosuppression et, chez les receveurs d'allogreffe, du type de greffe. Les localisations viscérales touchent volontiers l'organe transplanté (rein, poumon, foie), siège d'une réplication virale spécifique. La pneumonie interstitielle est la manifestation la plus sévère et la plus spécifique chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Chez les patients VIH-séropositifs, l'infection à CMV, associée à une immunosuppression très sévère, est devenue rare et la rétinite en est la première manifestation. Les atteintes intestinales et des atteintes neurologiques diverses sont décrites dans tout type d'immunosuppression. Première cause des infections virales congénitales et périnatales, le CMV peut être responsable d'atteintes sévères chez le fœtus et le nouveau-né infecté *in utero*.

Le sang est un prélèvement choix pour le diagnostic de l'infection à CMV car la dissémination du virus dans le

sang circulant est un marqueur de l'infection active, primo-infection ou infection secondaire. L'antigénémie à CMV, qui correspond à la présence de la phosphoprotéine pp65 (ppUL83) dans les noyaux des polynucléaires circulants, est mise en évidence par immunofluorescence indirecte. Ce test est sensible, mais n'est pas adapté aux grandes séries et est en défaut chez les patients en aplasie [2]. Il tend à être remplacé par les méthodes de détection et quantification de l'ADN viral par PCR en temps réel, certaines complètement automatisées [3]. Le virus ne circule pas libre dans le sang, mais lors des infections actives, l'ADN viral est détecté dans le plasma. Le génome viral peut être donc recherché et quantifié dans le sang total ou le plasma. Cependant, les niveaux de charges virales sont plus élevés et la détection de l'ADNémie plus précoce dans le sang total que dans le plasma. Le suivi de la charge virale chez les patients doit s'effectuer à partir de la même matrice. L'utilisation d'un étalon international (*WHO International Standard*) disponible depuis 2010 permet l'expression des résultats en UI et facilite la comparaison des résultats obtenus dans des laboratoires différents [4]. Les charges virales déterminées par PCR en temps réel sont concordantes avec les mesures d'antigénémie dans la majorité des études comparant les deux techniques. Cependant, la PCR en temps réel permet de détecter l'infection plus précocement.

La maladie à CMV s'accompagne habituellement d'un niveau élevé d'antigénémie pp65 (supérieur à 50 cellules marquées pour $2,5 \times 10^5$ leucocytes) ou d'ADNémie mais un seuil permettant de distinguer infection active sans retentissement clinique et maladie est difficile à adapter aux cas individuels. Chez les patients immunodéprimés, la surveillance des marqueurs de dissémination sanguine du virus, qui précède et/ou accompagne le développement d'une atteinte viscérale, constitue l'élément majeur du suivi virologique (figure 1). Chez les receveurs d'allogreffe, la prévention de l'infection ou de la maladie à CMV est de

Figure 1 – Exemple schématique du suivi de la charge virale à cytomégalovirus (CMV) chez un patient greffé séropositif pour ce virus et soumis à un traitement immunodépresseur.



DR

règle et fait l'objet de recommandations internationales réactualisées régulièrement [5,6]. La prophylaxie qui consiste à administrer un traitement antiviral après la greffe pour prévenir l'infection active, ne nécessite pas une surveillance virologique rapprochée. En pratique, en l'absence de consensus, un contrôle de la charge virale est effectué mensuellement ou à la fin de la prophylaxie selon les centres. La molécule de choix utilisée en prophylaxie est le valganciclovir (Rovalcye®). En revanche, le traitement anticipé dit « préemptif » qui est institué dès que le niveau de la charge virale sanguine atteint un seuil prédéfini indiquant un risque élevé de survenue de manifestations cliniques, nécessite le suivi virologique régulier du receveur, en règle une ou deux fois par semaine pendant les trois premiers mois après greffe, puis à chaque visite au-delà. Les seuils d'antigénémie ou d'ADNémie, qui dépendent du type de greffe et des protocoles d'immunosuppression mis en œuvre, doivent être définis afin d'initier sans retard le traitement [7]. Des seuils de 2275 (3,35 log) UI/mL de plasma chez les receveurs d'organe solide, et de 135 (2,13 log) UI/mL de plasma ou 2500 à 5500 (3,4 à 3,7 log) UI/mL de sang total pour les receveurs de CSH sont proposés [7-9]. Les molécules utilisées sont le ganciclovir (Cymévan®), le valganciclovir (Rovalcye®) ou le foscarnet (Foscavir®). Le choix du traitement dépend du risque d'infection sévère et des contre-indications respectives de ces antiviraux. Le choix des stratégies de prévention (prophylaxie ou traitement anticipé) ne fait pas l'objet d'un consensus et dépend du type de greffe. Au cours du sida, une surveillance virologique n'est en pratique nécessaire que chez les patients dont le nombre de lymphocytes CD4+ est inférieur à 100, voire 50/mm³ de sang.

La décroissance de la charge virale sous traitement est un élément essentiel d'évaluation de la réponse au traitement [10]. Sous traitement antiviral efficace, une réduction de moitié du niveau de l'ADNémie est obtenue en 1 à 2 jours et celle-ci devient indétectable en 15 à 21 jours. L'antigénémie devient indétectable en 10 à 15 jours après parfois une élévation transitoire. Ces délais dépendent cependant de la charge virale initiale. Une décroissance lente de la charge virale peut être associée à une récurrence à l'arrêt du traitement, plus rarement à l'émergence de la résistance. En fonction du contexte clinique, le génome viral peut être recherché dans divers prélèvements (sécrétions pharyngées, LBA, LCS, biopsies, liquide de ponction, urine). La détection du génome viral dans le LCS signe une atteinte du système nerveux central. L'intérêt de la quantification du génome du CMV n'y est pas démontré. Pour les autres atteintes viscérales, la seule démonstration par PCR de la présence du génome viral (dans les biopsies ou un LBA) ne suffit pas à affirmer le diagnostic de maladie à CMV. La confrontation des résultats virologiques avec les données cliniques et anatomo-pathologiques est nécessaire.

La présence de l'ADN viral dans le liquide amniotique (LA) prélevé après 21 semaines d'aménorrhée démontre la transmission materno-fœtale de l'infection. Cependant le niveau de charge virale dans le LA ne permet pas de prédire les conséquences cliniques de l'infection fœtale [11]. La détection de l'ADN viral par PCR dans les urines ou dans la salive prélevées dans les 15 premiers jours de vie supplante la recherche du virus par culture pour le diagnostic

de l'infection congénitale chez le nouveau-né. La mesure de la charge virale sanguine à la naissance aurait un intérêt pronostique sur le risque de développer une surdité. Le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV chez l'enfant peut être effectué par PCR à partir du sang séché conservé sur les cartes de Guthrie.

4. EBV

L'EBV est un gammaherpèsvirus. Il est très ubiquitaire avec une séroprévalence de 95 %. Lors de la primo-infection le virus pénètre par voie oropharyngée et infecte les cellules épithéliales, puis les cellules cibles qui sont les lymphocytes B naïfs ; ceux-ci s'activent, prolifèrent, et se différencient en lymphocytes B mémoires matures (CD19+/CD20+/CD27+). Ces cellules sont le siège de la latence virale. La primo-infection est le plus souvent asymptomatique et se fait durant la petite enfance. Elle est parfois sévère chez l'enfant immunodéprimé et peut même rapidement conduire à un lymphome ou un syndrome d'activation lymphohistiocytaire [12]. La primo-infection est rarement décrite chez l'adulte ; elle est alors associée au tableau clinique de mononucléose infectieuse, voire à des tableaux plus sévères avec des atteintes du système nerveux central (SNC), voire là-aussi des syndromes d'activation lymphohistiocytaire [12,13]. La persistance virale, comme pour les autres herpèsvirus, associe des périodes de latence et des phases de réactivation virale (« cycle productif ») avec production de particules infectieuses. Ces réactivations virales sont le souvent asymptomatiques, sauf parfois chez les sujets immunodéprimés où apparaît une fièvre, une cytolysé hépatique, éventuellement des adénopathies, voire une hépatosplénomégalie et une éruption cutanée. La particularité de l'EBV (comme du HHV-8) est son pouvoir oncogène très puissant. Le virus est ainsi responsable de certaines lymphoproliférations (lymphomes) et certaines épithélioproliférations (carcinomes). Les lymphoproliférations EBV-induites représentent le pouvoir pathogène le plus fréquent du virus et concernent des proliférations monoclonales B [14]. Il peut s'agir de lymphoprolifération post-greffe (ou PTLTD pour *post transplant lymphoproliferative disease*), de maladie de Hodgkin, de lymphome malin non hodgkinien, de lymphome cérébral primitif, de lymphome de Burkitt. À titre indicatif, l'incidence des lymphoproliférations post-greffe EBV-induites dans les greffes de CSH est généralement inférieure à 5 % mais peut passer à 30 % chez les patients ayant des facteurs de risque (déplétion lymphocytaire T avec du sérum anti-lymphocytaire, degré élevé de discordance donneur/receveur) [15-18]. Le rôle inducteur de l'EBV dans ces lymphoproliférations n'est pas systématique ; néanmoins on le retrouve très fréquemment dans les lymphoproliférations qui surviennent dans l'année qui suit les greffes (greffes de CSH ou greffes d'organe), dans les lymphomes de Burkitt du patient infecté par le VIH, et dans 100 % des lymphomes cérébraux primitifs. Les carcinomes liés à l'EBV sont représentés essentiellement par le carcinome nasopharyngé où le génome viral est présent dans toutes les cellules cancéreuses [19,20]. Le rôle oncogène de l'EBV dans les carcinomes pulmonaires, gastriques ou mammaires reste toujours discuté. La recherche de l'ADN de l'EBV était réalisée initialement

dans le LCS de manière qualitative et l'on considèrerait que sa présence était en faveur d'un lymphome cérébral ou d'une exceptionnelle encéphalite à EBV. Puis les premières quantifications de l'ADN de l'EBV dans le sang périphérique ont été effectuées dans le cadre du suivi des patients greffés, en particulier des greffes de CSH, compte-tenu de l'incidence élevée de lymphomes sur ce terrain. Désormais, grâce à l'évolution des techniques de PCR en temps réel, la charge virale EBV est devenue un outil incontournable en particulier pour le suivi des patients immunodéprimés. La quantification de l'ADN de l'EBV se fait essentiellement sur sang total, ce qui permet de quantifier le virus libre (rare) et le virus intracellulaire. Elle est également réalisée parfois dans le plasma, et la présence d'ADN dans cette matrice révèle alors une réplication virale et/ou une nécrose ou apoptose cellulaire. Ainsi, chez 33 patients VIH-séropositifs ou atteints de lymphome B, l'ADN de l'EBV a été quantifié dans le sang total, le plasma, les cellules B enrichies, et le surnageant de culture des lymphocytes B [21]. Il a été montré une plus grande sensibilité de détection de l'ADN viral dans les échantillons enrichis en cellules B ainsi que l'absence de corrélation entre la charge virale dans les lymphocytes B et dans le sang total. Mais ces techniques ne sont pas applicables en diagnostic courant, et la charge virale dans le sang total reste la technique de référence en France. Une charge virale élevée dans le sang total est associée à une lymphoprolifération et/ou à une réplication virale, aucune technique simple ne permettant actuellement de différencier ces deux états. L'étude de l'expression des transcrits de l'EBV (transcrits de latence et transcrits du cycle productif) pourrait faire cette distinction mais n'est pas applicable actuellement en pratique courante.

Les principales indications de la mesure de la charge virale EBV sont résumées comme suit. Le suivi longitudinal des patients des greffés est effectué, surtout dans la première année qui suit la greffe, à la recherche de signes biologiques de lymphoprolifération. En cas d'élévation importante de la charge virale, un traitement anticipé par le MabThera® (rituximab, anticorps monoclonal anti CD20) est mis en place pour éviter la lymphoprolifération monoclonale. La mise sous rituximab justifie également le suivi de la charge virale pour vérifier l'efficacité du traitement [15-18,22]. Ce suivi longitudinal concerne également les patients atteints de pathologies inflammatoires chroniques traités par des immunosuppresseurs (polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante, maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) pour lesquels les mêmes indications du rituximab peuvent être proposées. Le diagnostic de lymphome chez les patients infectés par le VIH serait également une indication mais, à la différence des sujets greffés, actuellement aucun suivi longitudinal n'est systématiquement effectué même si l'intérêt de ce suivi commence à être démontré [23,24]. La charge virale EBV contribue aussi au diagnostic étiologique d'un syndrome d'activation lymphohistiocytaire en gardant en tête que 75 % de ces syndromes chez l'enfant sont liés à ce virus. Le diagnostic et le suivi sous traitement des patients atteints de carcinome nasopharyngé utilisent aussi la quantification de l'ADN : elle s'effectue le plus souvent dans le sang total et le plasma puisque les virus sont à la fois en phase de latence et en phase productive,

la mesure dans le plasma ayant fait la preuve de son intérêt dans de nombreuses publications [19,20]. Les autres indications de la mesure de la charge virale EBV sont du domaine de la recherche clinique, explorant par exemple l'implication de l'EBV dans la sclérose en plaques ou la myasthénie. Il est également parfois demandé une charge virale pour le diagnostic de primo-infection EBV lorsque l'interprétation de la sérologie est difficile. Dans ce cas, on retrouve habituellement une charge virale EBV élevée dans le sang total, le plasma, et encore plus dans la salive dans laquelle l'ADN persiste de façon prolongée [13]. La difficulté de cet examen réside dans son interprétation. La mise à disposition récente par l'OMS d'un étalon universel de quantification permettant l'expression des résultats en UI, facilitera un rendu homogène de ces résultats par les différents laboratoires et l'établissement de seuils d'alerte selon le contexte clinique [25]. Actuellement, on ne peut pas encore définir de valeur seuil consensuelle de la charge virale EBV à partir de laquelle on peut suspecter une prolifération maligne EBV-induite (lympho- ou épithélioprolifération). Il est nécessaire de connaître les valeurs seuils estimées localement par le laboratoire qui effectue la mesure des charges virales [26]. Dans le cadre du suivi des patients greffés, on retrouve souvent comme valeur seuil un niveau d'ADNémie EBV supérieur à 10 000 UI/mL ou 10 000 copies/mL [27]. Ainsi, les patients greffés de CSH peuvent recevoir un traitement anticipé par le rituximab pour des valeurs de charge virale supérieures à 10 000 UI/mL, mais avec le risque d'un traitement non adapté si le virus est en phase productive et non en phase de latence. De même, pour une valeur de charge supérieure à 100 000 UI/mL et quel que soit le contexte (greffé ou non), on peut rechercher activement une lymphoprolifération. Entre 10 000 et 100 000 UI/mL, se trouve souvent une zone grise qui nécessite des contrôles de charge virale répétés et une confrontation clinico-virologique. Mais il n'est pas rare de voir également, chez des patients immunodéprimés, des valeurs persistantes de charge virale au-dessus de 10 000 UI/mL sur plusieurs mois ou années en dehors de toute lymphoprolifération. Il faut donc savoir interpréter l'ensemble de ces résultats avec prudence.

En dehors du sang total, l'ADN de l'EBV peut être quantifié dans le LCS, le LBA, les liquides pleuraux, péricardiques ou péritonéaux, les biopsies médullaires ou ganglionnaires, à la recherche de lymphoproliférations EBV-induites, voire même dans les écouvillonnages oropharyngés dans le cadre du diagnostic et du suivi des carcinomes nasopharyngés [28]. La quantification de l'EBV dans le LCS a permis d'abolir le dogme que la présence d'ADN de l'EBV dans ce liquide biologique était forcément associée à une pathologie induite par ce virus. En effet, comme cela a été constaté chez les patients infectés par le VIH, la présence d'ADN de l'EBV dans le LCS peut être associée à d'autres pathologies cérébrales telles qu'une encéphalite à VIH, une toxoplasmose cérébrale, une tuberculose neuro-méningée. De ce fait, les valeurs prédictives positives et négatives de la charge virale dans le LCS sont faibles. Cependant une charge virale très élevée dans le LCS, *a fortiori* supérieure à la charge virale dans le sang total, est un argument en faveur d'une atteinte du SNC induite

par l'EBV : lymphome cérébral, diagnostic différentiel de la toxoplasmose cérébrale chez le patient infecté par le VIH, ou rare encéphalite à EBV [29].

Ainsi la charge virale EBV est un outil en pleine expansion mais qui nécessite toujours une interprétation en fonction du contexte clinique. D'autres outils virologiques plus fins comme l'étude de l'expression des transcrits de l'EBV ou de la méthylation de l'ADN de l'EBV pourraient contribuer à lever les ambiguïtés de la charge virale et ainsi aider au diagnostic comme à la décision thérapeutique.

5. HHV-6

Le HHV-6 est un bêtaherpèsvirus, génétiquement proche du CMV [30]. Ce terme englobe maintenant deux espèces virales différentes, le HHV-6A et le HHV-6B, que l'on distingue sur des critères antigéniques et génétiques, et qui posent la question d'éventuelles différences dans leur pouvoir pathogène respectif [31]. Ce sont des virus ubiquitaires qui infectent les lymphocytes T, les monocytes-macrophages, certaines cellules épithéliales et les cellules du système nerveux central. Le HHV-6B est l'agent causal d'une maladie bénigne du très jeune enfant, l'exanthème subit, encore appelé roséole infantile ou sixième maladie. Le HHV-6A et le HHV-6B provoquent également des infections opportunistes chez les sujets immunodéprimés, incluant des infections systémiques et des atteintes viscérales, en particulier des encéphalites, des hépatites, des colites, des insuffisances médullaires, des pneumopathies. Une propriété remarquable distinguant les HHV-6A et HHV-6B des autres herpèsvirus humains est la capacité d'intégrer de façon covalente leur ADN dans la région télomérique des chromosomes humains [32]. Cette propriété concerne environ 1 % de la population générale, est transmise de façon héréditaire selon les lois de la génétique mendélienne, et ne paraît pas actuellement associée directement à une quelconque maladie bien que chaque cellule de l'organisme contienne au moins une copie du génome viral et que la production de virus soit possible par réactivation de ce génome intégré. L'intégration chromosomique doit donc être distinguée à la fois de l'infection active qui induit la mort des cellules hôtes et la production de virus, et de la persistance sous forme latente du génome viral dans différents sites de l'organisme qui est commune à tous les herpèsvirus.

Le diagnostic des infections à HHV-6A et HHV-6B est entrepris habituellement devant un tableau clinique sévère évoquant une infection virale active, qu'il s'agisse d'une primo-infection ou d'une réactivation [33]. Les échantillons biologiques utilisables sont le sang total prélevé sur anticoagulants qu'on préfère au plasma, le HHV-6 circulant étant plutôt un virus intraleucocytaire qu'un virus libre, la salive, ou d'autres prélèvements choisis en fonction de la symptomatologie clinique, tels que des échantillons de LCS ou de LBA, des biopsies tissulaires. La détermination de la charge virale se fait globalement pour l'ensemble des HHV-6 présents, ou spécifiquement pour chacune des deux espèces HHV-6A et HHV-6B. La méthode générale utilisée est la PCR en temps réel et un étalon international de quantification est en cours de fabrication sous l'égide de l'OMS.

Les valeurs d'ADNémie HHV-6 permettant de distinguer une infection active d'une infection latente se situent grossièrement autour de 1000 copies de génome viral par mL de sang total [33]. Faute d'études dédiées spécifiquement à la question, ce seuil fait l'objet de nombreuses modulations en fonction du contexte clinique et biologique. Dans tous les cas, des mesures successives de l'ADNémie HHV-6 permettent une meilleure évaluation de la dynamique de l'infection active. Par ailleurs il est souvent utile d'exprimer l'ADNémie en fonction du nombre de cellules présentes dans le sang circulant, surtout en cas de leucopénie qui pourrait conduire à sous-estimer l'intensité de la multiplication virale. On évoque une intégration chromosomique du HHV-6A ou du HHV-6B devant une ADNémie très élevée et stable, atteignant ou dépassant de façon reproductible un million de copies d'ADN génomique par millilitre de sang total. Cependant, une telle valeur peut être atteinte sans intégration chromosomique de HHV-6 au cours d'infections actives particulièrement intenses et des réactivations virales sont aussi observées chez les porteurs d'intégration. L'intégration chromosomique est confirmée par la présence d'ADN de HHV-6 dans un échantillon de follicules pileux ou d'ongles, les phanères ne contenant pas habituellement ce virus, ou par quantification parallèle de l'ADN viral et de l'ADN cellulaire par PCR digitale en microdilution, une approche plus récente en cours de standardisation.

La détection de l'ADN du HHV-6 dans le LCS évoque une infection active du système nerveux central, en particulier une encéphalite si les signes cliniques orientent vers ce diagnostic. Dans ce cas, l'ADNémie mesurée de façon concomitante n'est pas constamment élevée car il semble exister d'authentiques réactivations virales restreintes au système nerveux central et survenant en l'absence d'infection systémique. Au-delà de la détection de l'ADN, la mesure de la charge virale à HHV-6 dans le LCS n'a pas été encore très exploitée pour le diagnostic des infections du système nerveux central. Cependant, là encore, il faut savoir évoquer une intégration chromosomique qui induit, par simple lyse cellulaire accidentelle, la présence d'ADN du HHV-6 dans le LCS. Pour les autres organes pouvant être le siège d'une infection active à HHV-6 tels que le foie ou le tube digestif, l'observation d'une charge virale plus élevée dans le tissu que dans le sang total permet d'évoquer l'existence d'une multiplication virale in situ.

Dans le cas d'une infection sévère à HHV-6 contre laquelle un traitement par le ganciclovir, le foscarnet ou le cidofovir est institué, le suivi de ce traitement inclut la surveillance de la charge virale dans le sang total et dans les autres échantillons biologiques accessibles pour en vérifier l'efficacité antivirale.

6. HHV-8

Le HHV-8, également connu sous le nom d'herpèsvirus associé à la maladie de Kaposi (KSHV), est un gammaherpèsvirus découvert en 1994. Ce virus infecte principalement les lymphocytes B et les cellules endothéliales [34,35]. La prévalence de l'infection à HHV-8 dans la population générale varie selon les régions, allant de moins de 5 % en Europe du Nord, et Amérique du Nord à plus de 40 %

au centre de l'Afrique, avec des valeurs intermédiaires (10-20 %) autour du Bassin méditerranéen, notamment en Italie et en Grèce. Le virus paraît transmis par voie salivaire, lors de contacts communautaires dès la première enfance mais également lors de rapports sexuels dans la vie adulte, d'où sa prévalence élevée chez les sujets exposés aux infections sexuellement transmissibles, notamment l'infection à VIH. Il peut également être transmis lors des dons d'organes. Le HHV-8 est associé spécifiquement à la maladie de Kaposi (MK), à la majorité des formes de maladie de Castleman multicentrique (MCM) et au lymphome primitif des séreuses (LPS). La fréquence de ces trois maladies tumorales est très inférieure à celle de l'infection à HHV-8 et augmente dans les situations d'immunodépression, en particulier chez les patients VIH-séropositifs et les sujets transplantés [34,36]. Au-delà de l'immunodépression, d'autres cofacteurs interviendraient aussi dans la genèse de ces maladies, dont le VIH et/ou l'EBV par leurs propriétés virologiques propres [35]. La MK a les caractères d'une prolifération maligne polyclonale, qui affecte en particulier les cellules endothéliales des vaisseaux lymphatiques de la peau et des muqueuses. La MCM est également une prolifération polyclonale qui affecte les cellules lymphoïdes des ganglions lymphatiques, alors que le LPS correspond à une lymphoprolifération monoclonale B particulièrement agressive. L'ADN du HHV-8 est constamment présent dans les cellules tumorales des trois maladies, mais à des niveaux variables atteignant des concentrations de 40 à 80 copies par cellule dans les LPS.

Si le diagnostic de l'infection à HHV-8 est du ressort de la sérologie, la caractérisation et le suivi de l'évolution des maladies associées à ce virus ont bénéficié de la détection et de la quantification du HHV-8 par PCR. Les échantillons biologiques contributifs sont le sang total, les cellules mononucléées sanguines, le plasma, la salive, les biopsies des lésions tumorales [37]. Plusieurs utilisations de la charge virale HHV-8 ont été envisagées, à l'image des applications de la charge virale EBV : aide au diagnostic devant une suspicion de MK de présentation clinique atypique ou pour distinguer une MK d'une MCM au sein du tissu lymphoïde ; mesure de la charge virale dans des sous-populations lymphocytaires ; prédiction de la survenue d'une MK chez un sujet immuno-déprimé HHV-8-séropositif ; suivi des effets des traitements

dirigés contre la multiplication du HHV-8, celle du VIH ou la prolifération des cellules tumorales porteuses du virus [38-40]. Des résultats significatifs ont été obtenus dans chacun de ces domaines et la quantification de l'ADN du HHV-8 a bien servi jusqu'à présent des objectifs de recherche. Ainsi, dans le contexte de la MK associée à l'infection à VIH chez des patients du Zimbabwe, la charge virale du HHV-8 a décru en moyenne de 660 à moins de 25 copies/mL de plasma et de 2 790 à 37 copies/million de cellules mononucléées sanguines après un traitement antirétroviral de deux ans ; une ADNémie plasmatique inférieure à 660 copies/mL avant traitement était significativement associée avec une meilleure survie et une meilleure réponse clinique globale [40]. Cependant force est de reconnaître que la charge virale HHV-8 n'est pas encore reconnue comme un marqueur de suivi individuel fiable et exploitable pour des décisions thérapeutiques [37,41-43]. De plus, malgré des progrès notables, les techniques de mesure ne sont pas bien standardisées et un étalon internationalement reconnu fait encore défaut.

7. Conclusion

La mesure de la charge virale grâce aux techniques de PCR quantitative est un progrès important dans la compréhension et la prise en charge médicale des infections à CMV, EBV, HHV-6 et HHV-8. Les efforts actuels de développement visent à une meilleure standardisation des techniques et la mise à disposition d'étalons internationaux garantissant la qualité et la comparabilité des résultats. Ils visent aussi à définir des critères d'interprétation consensuels aussi bien pour le diagnostic et le pronostic des infections que pour les indications et le suivi des traitements antiviraux. D'autres marqueurs biologiques concernant les profils de transcription virale, les modifications épigénétiques des génomes viraux, les effecteurs cellulaires et humoraux de la réponse immunitaire antivirale sont appelés à compléter prochainement les contributions de la mesure de la charge virale dans la gestion des infections à herpèsvirus.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Mazon MC, Alain S, Leruez-Ville M, Schnepf N. Infection à cytomégalovirus. In: EMC Maladies Infectieuses. Paris; 2015:1-16 [Article 8-052-C-10].
- [2] Breda G, Almeida B, Carstensen S, et al. Human cytomegalovirus detection by real-time PCR and pp65-antigen test in hematopoietic stem cell transplant recipients: a challenge in low and middle-income countries. *Pathog Glob Health* 2013;107:312-9.
- [3] Schnepf N, Scieux C, Resche-Riggon M, et al. Fully automated quantification of cytomegalovirus (CMV) in whole blood with the new sensitive Abbott RealTime CMV assay in the era of the CMV international standard. *J Clin Microbiol* 2013;51:2096-102.
- [4] Frever JF. WHO Expert Committee on Biological Standardization 2010. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for nucleic acid amplification (NAT)-based assays. WHO/BS/10.2138. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- [5] Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013;96:333-60.
- [6] Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, et al. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;42:227-40.
- [7] Tan SK, Waggoner JJ, Pinsky BA. Cytomegalovirus load at treatment initiation is predictive of time to resolution of viremia and duration of therapy in hematopoietic cell transplant recipients. *J Clin Virol* 2015;69:179-83.
- [8] Boaretti M, Sorrentino A, Zantedeschi C, Forni A, Boschiero L, Fontana R. Quantification of cytomegalovirus DNA by a fully automated real-time PCR for early diagnosis and monitoring of active viral infection in solid organ transplant recipients. *J Clin Virol* 2013;56:124-8.

- [9] Servais S, Dumontier N, Biard L, et al. Response to antiviral therapy in haematopoietic stem cell transplant recipients with cytomegalovirus (CMV) reactivation according to the donor CMV serological status. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:289 e1-7.
- [10] Razonable RR, Asberg A, Rollag H, et al. Virologic suppression measured by a cytomegalovirus (CMV) DNA test calibrated to the World Health Organization international standard is predictive of CMV disease resolution in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2013;56:1546-53.
- [11] Leruez-Ville M, Stirnemann J, Sellier Y, et al. Feasibility of predicting the outcome of fetal infection with cytomegalovirus at the time of prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol* 2016; doi: 10.1016/j.ajog.2016.03.052
- [12] Darteyre S, Ludwig C, Jeziorski E, Schved JF, Rodiere M. [Hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus infection in children]. *Med Mal Infect* 2010;40:18-26.
- [13] Balfour HH, Jr., Dunmire SK, Hogquist KA. Infectious mononucleosis. *Clin Transl Immunology* 2015;4:e33.
- [14] Ok CY, Li L, Young KH. EBV-driven B-cell lymphoproliferative disorders: from biology, classification and differential diagnosis to clinical management. *Exp Mol Med* 2015;47:e132.
- [15] San-Juan R, Comoli P, Caillard S, Moulin B, Hirsch HH, Meylan P. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2014;20 Suppl 7:109-18.
- [16] Green M, Michaels MG. Epstein-Barr virus infection and post-transplant lymphoproliferative disorder. *Am J Transplant* 2013;13 Suppl 3:41-54.
- [17] Dierickx D, Tousseyn T, Gheysens O. How I treat posttransplant lymphoproliferative disorders. *Blood* 2015;126:2274-83.
- [18] Sanz J, Andreu R. Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disorder after allogeneic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol* 2014;26:677-83.
- [19] Chua ML, Wee JT, Hui EP, Chan AT. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet* 2016;387:1012-24.
- [20] Zhang W, Chen Y, Chen L, et al. The clinical utility of plasma Epstein-Barr virus DNA assays in nasopharyngeal carcinoma: the dawn of a new era?: a systematic review and meta-analysis of 7836 cases. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e845.
- [21] Ouedraogo DE, Bollere K, Viljoen J, et al. Comparison of EBV DNA viral load in whole blood, plasma, B-cells and B-cell culture supernatant. *J Med Virol* 2014;86:851-6.
- [22] Gulley ML, Tang W. Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:350-66.
- [23] Leruez-Ville M, Seng R, Morand P, et al. Blood Epstein-Barr virus DNA load and risk of progression to AIDS-related systemic B lymphoma. *HIV Med* 2012;13:479-87.
- [24] Amiel C, Legoff J, Lescure FX, et al. Epstein-Barr virus load in whole blood correlates with HIV surrogate markers and lymphoma: a French national cross-sectional study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;50:427-9.
- [25] Semenova T, Lupo J, Alain S, et al. Multicenter evaluation of whole-blood Epstein-Barr viral load standardization using the WHO international standard. *J Clin Microbiol* 2016.
- [26] Styczynski J, Reusser P, Einsele H, et al. Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:757-70.
- [27] Ahmad I, Cau NV, Kwan J, et al. Preemptive management of Epstein-Barr virus reactivation after hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2009;87:1240-5.
- [28] Chen Y, Zhao W, Lin L, et al. Nasopharyngeal Epstein-Barr Virus Load: An Efficient Supplementary Method for Population-Based Nasopharyngeal Carcinoma Screening. *PLoS One* 2015;10:e0132669.
- [29] Yanagisawa K, Tanuma J, Hagiwara S, Gatanaga H, Kikuchi Y, Oka S. Epstein-Barr viral load in cerebrospinal fluid as a diagnostic marker of central nervous system involvement of AIDS-related lymphoma. *Intern Med* 2013;52:955-9.
- [30] Yamanishi K, Mori Y, Pellett PE. Human Herpesviruses 6 and 7. In: Knipe DM, Howley PM, Cohen JL, et al., eds. *Fields Virology*. Sixth Edition ed. Philadelphia: Wolters Kluwer / Lippincott Williams & Wilkins; 2013:2058-79.
- [31] Ablashi D, Agut H, Alvarez-Lafuente R, et al. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. *Arch Virol* 2014;159:863-70.
- [32] Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. *Rev Med Virol* 2012;22:144-55.
- [33] Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:313-35.
- [34] Edelman DC. Human herpesvirus 8--a novel human pathogen. *Virol J* 2005;2:78 doi:10.1186/1743-422X-2-78.
- [35] Thakker S, Verma SC. Co-infections and Pathogenesis of KSHV-Associated Malignancies. *Front Microbiol* 2016;7:151.
- [36] Laurent C, Meggetto F, Brousset P. Human herpesvirus 8 infections in patients with immunodeficiencies. *Hum Pathol* 2008;39:983-93.
- [37] Lebbe C, Legendre C, Frances C. Kaposi sarcoma in transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2008;22:252-61.
- [38] Grandadam M, Dupin N, Calvez V, et al. Exacerbations of clinical symptoms in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with multicentric Castleman's disease are associated with a high increase in Kaposi's sarcoma herpesvirus DNA load in peripheral blood mononuclear cells. *J Infect Dis* 1997;175:1198-201.
- [39] Cattamanchi A, Saracino M, Selke S, et al. Treatment with valacyclovir, famciclovir, or antiretrovirals reduces human herpesvirus-8 replication in HIV-1 seropositive men. *J Med Virol* 2011;83:1696-703.
- [40] Borok M, Fiorillo S, Gudza I, et al. Evaluation of plasma human herpesvirus 8 DNA as a marker of clinical outcomes during antiretroviral therapy for AIDS-related Kaposi sarcoma in Zimbabwe. *Clin Infect Dis* 2010;51:342-9.
- [41] Guttman-Yassky E, Abada R, Kra-Oz Z, et al. Relationship between human herpesvirus 8 loads and disease stage in classic Kaposi sarcoma patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:387-92.
- [42] Haq IU, Dalla Pria A, Papanastasiopoulos P, et al. The clinical application of plasma Kaposi sarcoma herpesvirus viral load as a tumour biomarker: results from 704 patients. *HIV Med* 2016;17:56-61.
- [43] Ferraz da Silva AP, Giron LB, Ramos da Silva S, Naime Barbosa A, Almeida RA, Elgui de Oliveira D. Human gammaherpesviruses viraemia in HIV infected patients. *J Clin Pathol* 2015;68:726-32.

Prise en charge thérapeutique des infections à herpèsvirus : traitements actuels et futurs

David Boutolleau^{a,b,c,*}, Sonia Burrel^{a,b,c}

RÉSUMÉ

Les infections à herpèsvirus constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité notamment chez les patients immunodéprimés tels que les patients recevant une greffe ou les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). Les molécules antivirales utilisées pour le traitement de ces infections sont actuellement peu nombreuses : (val) aciclovir, (val) ganciclovir, foscarnet et cidofovir. L'instauration de traitements antiviraux préventifs ou curatifs, souvent durant des périodes prolongées, chez des patients dont l'immunité cellulaire est altérée, peut conduire à l'émergence de résistance aux antiviraux, compliquant alors la prise en charge thérapeutique de l'infection virale. Il est possible de détecter cette résistance par des méthodes génotypiques (identification de mutations associées à la résistance aux antiviraux par séquençage des gènes qui codent les protéines virales directement impliquées dans le mécanisme d'action des antiviraux) ou par des méthodes phénotypiques (mesure de la concentration d'un antiviral inhibant 50 % de la multiplication virale en culture de cellules). De plus, il existe d'autres limitations à l'utilisation de ces antiviraux : une impossibilité à éradiquer les infections virales latentes et leurs effets indésirables. À ce jour, des molécules en cours de développement préclinique ou d'essais thérapeutiques ainsi que de nouvelles cibles virales potentielles sont porteuses d'espoir pour agrandir le panel de molécules efficaces sur les herpèsvirus.

Antiviraux - Infection à herpèsvirus - nouvelles molécules - patients immunodéprimés - prise en charge thérapeutique - résistance aux antiviraux.

1. Introduction

Les neuf herpèsvirus capables d'infecter l'Homme sont répartis en trois sous-familles au sein de la famille des *Herpesviridae* : *Alphaherpesvirinae* (virus herpes simplex de types 1 et 2 [HSV-1 et HSV-2], virus varicelle-zona [VZV]), *Betaherpesvirinae* (cytomégalovirus [CMV], herpès-

SUMMARY

Therapeutic management of herpesvirus infections: Current and future treatments

Human herpesvirus infections remain an important cause of morbidity and mortality among immunocompromised patients, as transplant recipients and human immunodeficiency virus [HIV]-infected individuals. Only few antiviral drugs are used to treat herpesvirus infections: (val) acyclovir, (val) ganciclovir, foscarnet, and cidofovir. Prophylactic and curative antiviral treatments administered during prolonged periods among patients with altered T-cell immunity may lead to the emergence of resistance to antivirals, contributing to a challenging therapeutic management of viral infection. Resistance to antivirals can be detected using genotypic methods (identifications of antiviral resistance-associated mutations by sequencing genes encoding viral proteins involved in the mechanism of action of antivirals) or phenotypic methods (measure of antiviral drug concentration inhibiting 50 % of viral replication in cell culture). The absence of eradication of latent viral infection and adverse effects constitute other limits to the use of antiviral drugs. New antiviral compounds undergoing clinical trials and novel viral targets seem very promising to enlarge the panel of efficient compound to treat herpesvirus infections.

Antiviral drugs - Herpesvirus infection - new compounds - immunocompromised patients - therapeutic management - resistance to antivirals.

^a Sorbonne Universités,
UPMC Univ Paris 06, CR7,
Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (CIMI-Paris),
Paris, France

^b INSERM, U1135,
CIMI-Paris,
Paris, France

^c Service de Virologie,
AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix,
Paris, France

* correspondance

david.boutolleau@aphp.fr

virus humains 6A et 6B [HHV-6A et HHV-6B], herpèsvirus humain 7 [HHV-7], *Gammapherpesvirinae* (virus Epstein-Barr [EBV], herpèsvirus humain 8 [HHV-8]). À l'exception du HHV-7 pour lequel à ce jour aucun pouvoir pathogène n'a été formellement démontré, les herpèsvirus peuvent être à l'origine de manifestations cliniques qui varient considérablement en fonction notamment de l'âge ou du statut immunitaire, et selon que l'on a affaire à une primo-infection ou à une réactivation. Chez les patients immunocompétents, les infections sont généralement peu symptomatiques et bien contrôlées. Toutefois, certaines manifestations cliniques peuvent montrer un degré de sévérité plus important : encéphalite herpétique, herpès néonatal, pneumopathie varicelleuse, ou encore lymphome de Burkitt. Chez les patients immunodéprimés, notamment ceux dont l'immunité cellulaire T est déficiente (patients greffés, infectés par le virus de l'immunodéficience humaine [HIV], traités par chimiothérapie anticancéreuse ou immunothérapie pour une maladie auto-immune, nouveau-nés...),

article reçu le 30 août 2016, accepté le 30 septembre 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

les infections à herpèsvirus peuvent alors se manifester par des lésions extensives et persistantes, avec un risque de dissémination, et par une excrétion virale quasi continue. Il est donc important de pouvoir disposer de molécules antivirales pour lutter contre ces différentes formes d'infection. Actuellement, l'arsenal thérapeutique pour le traitement des infections à herpèsvirus est limité avec une seule classe de molécules antivirales : les inhibiteurs de l'ADN polymérase virale. L'aciclovir, dont la découverte par Gertrude Elion et John Hitchings a été récompensée par le Prix Nobel de Médecine en 1988, reste le représentant emblématique des antiherpétiques. Toutefois, il est important de noter que ces antiviraux, qui ralentissent voire bloquent la réplication de l'ADN viral, sont avant tout actifs pour le traitement des infections à α - et β -herpèsvirus dont le pouvoir pathogène est directement associé à la réplication virale active. Pour les γ -herpèsvirus en revanche, pour lesquels le pouvoir pathogène est majoritairement la conséquence de proliférations cellulaires malignes viro-induites (notamment des lymphoproliférations), l'apport de ces antiviraux reste très modeste, et la prise en charge thérapeutique fait alors appel à des traitements tels que l'immunothérapie, la chimiothérapie, ou la radiothérapie.

2. Prise en charge thérapeutique des infections à α - et β -herpèsvirus

2.1. Antiviraux actuellement utilisés en pratique médicale

La prise en charge thérapeutique des infections à α - et β -herpèsvirus repose sur l'utilisation d'antiviraux dont la grande majorité est constituée d'inhibiteurs de l'ADN polymérase virale, enzyme clé de la réplication des herpèsvirus (*figure 1 et tableau I*) [1-3]. Il ne s'agit pas d'agents virucides qui détruisent le pouvoir infectieux des particules virales ni de molécules ayant une activité sur les virus en situation de latence intracellulaire, mais de composés virostatiques perturbant la réplication virale. Parmi eux se trouvent des analogues structuraux de substrat ou produit de l'enzyme qui regroupent les analogues de nucléosides, de nucléotides ou de pyrophosphate interférant avec le site catalytique par un mécanisme de compétition et/ou d'arrêt prématuré dans la synthèse d'acide nucléique (*figures 2 et 3*). Les principaux analogues nucléosidiques actuellement utilisés en pratique médicale pour traiter les infections à herpèsvirus sont les suivants : l'aciclovir (ACV) et le ganciclovir (GCV),

Figure 1 – Cibles des antiviraux dirigés contre les herpèsvirus.

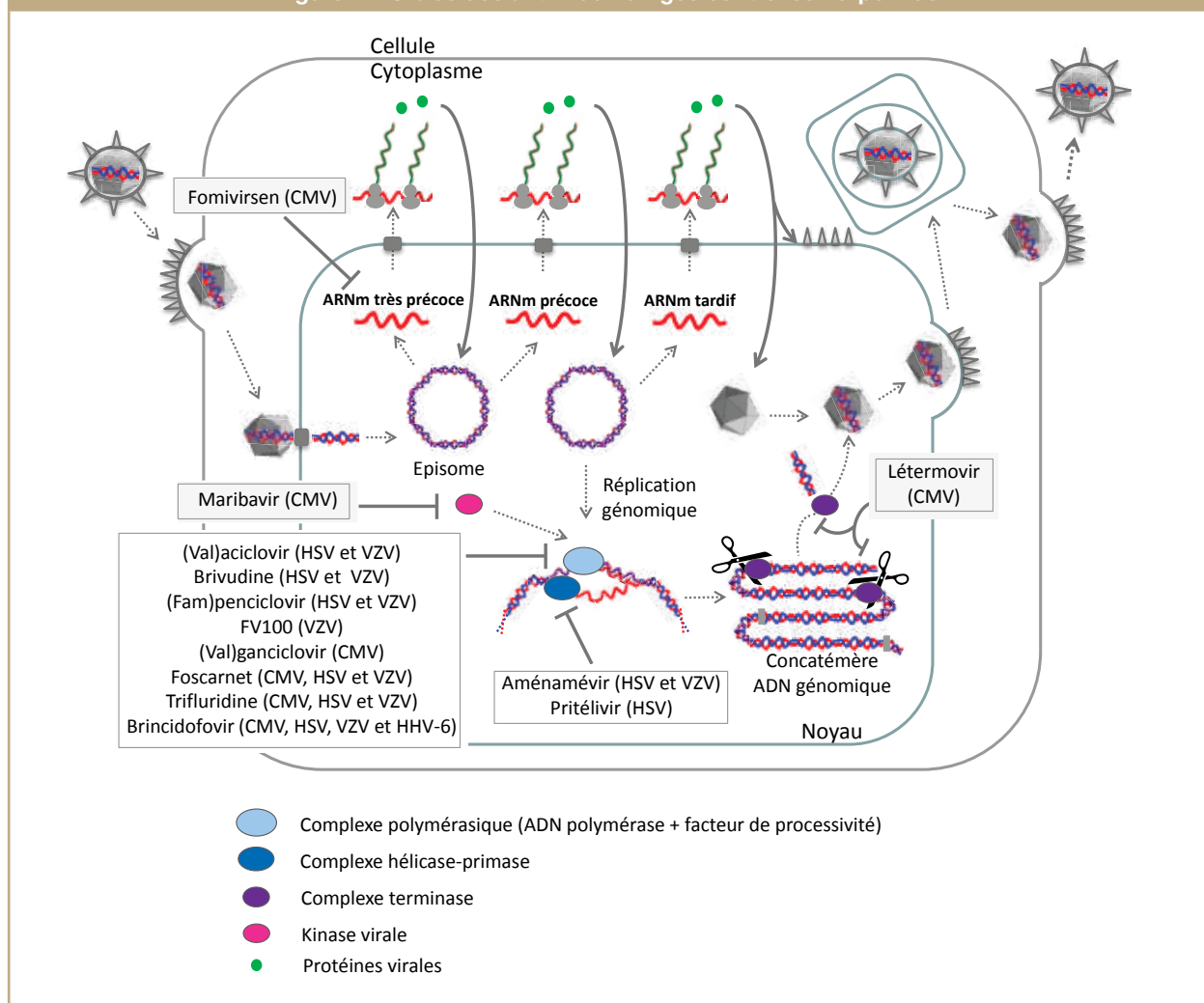


Tableau I. Propriétés pharmacologiques et indications des antiviraux dirigés contre les herpèsvirus.

DCI (abréviation)	Voie d'administration	Posologie moyenne	Élimination	Effets indésirables	Indication(s)
Antiviraux utilisés en pratique médicale					
Aciclovir (ACV)	- Per os - IV - Locale	- 1 g/jour (HSV), 4 g/jour (VZV)* - 30 mg/kg/jour (HSV et VZV)* - NA	Élimination rénale	- Neurologiques - Rénaux	- Infections à HSV (encéphalite, herpès cutanéomuqueux, herpès néonatal) - Infections à VZV (varicelle, zona)
Valaciclovir (VACV, prodrogue)	- Per os	- 1 g/jour (HSV), 3 g (VZV)*			
Penciclovir (PCV) Famciclovir (FCV, prodrogue)	- Locale - Per os	- NA - 1 g/jour (HSV et VZV)*	Élimination rénale et digestive	- Digestifs - Céphalées	- Herpès cutanéomuqueux (HSV) - Zona (VZV)
Ganciclovir (GCV) Valganciclovir (VGCV, prodrogue)	- IV - Per os	10 mg/kg* - 1800 mg/jour*	Élimination rénale	Hématologiques	- Infections à CMV et à HHV-6
Fomivirsen	Locale (intra-oculaire)	165-300 g/jour	NA		Rétinite à CMV
Brivudine (BVDU)	- Locale - Per os	- NA - 125 mg/jour	Catabolisme hépatique	- Hématologiques - Toxiques majeurs si association à la 5FU	- Kératite herpétique (HSV) - Zona (VZV)
Trifluridine (TFT)	Locale	NA	NA	NA	Kératite herpétique (HSV)
Idoxuridine (IDU)	Locale	NA	NA	NA	Kératite herpétique (HSV)
Cidofovir (CDV)	IV (+ probénécide)	5mg/kg/semaine*	Élimination rénale	Rénaux	Infections à CMV, HHV-6, HSV et VZV (si résistance aux autres antiherpétiques)
Foscarnet (FOS)	IV Locale (intra-oculaire)	- 180 mg/kg/jour (tous virus)* - NA	Élimination rénale	Rénaux	Infections à CMV, HHV-6, HSV et VZV (si résistance aux autres antiherpétiques)
Antiviraux évalués en essais cliniques					
Brincidofovir (BCV), prodrogue du CDV	Orale	100 mg/2 fois par semaine	Élimination rénale	Digestifs mineurs	Infections à CMV, HHV-6, HSV et VZV, disponible en ATU (si résistance aux autres antiherpétiques)
Aménamévir	Orale	1 200 mg/jour	ND	Digestifs mineurs	Infections à HSV et à VZV
Pritélovir	- Orale - Locale	400 mg/semaine	ND	Digestifs	Infections à HSV
FV100, prodrogue du Cf1743	Orale	400 mg/jour	Catabolisme hépatique	Digestifs mineurs	Infections à VZV
Valomaciclovir	Orale	1000-3000 mg/jour	ND	Digestifs	Infections à VZV, infections à EBV
Maribavir (MBV)	Orale	800-1 600 mg/jour	Élimination rénale	Gustatifs	Infections à CMV, disponible en ATU (si résistance aux autres antiherpétiques)
Létermovir (LMV)	Orale	120-240 mg/jour	Élimination digestive	Digestifs mineurs	Infections à CMV
Artésunate	Orale	120-200 mg/jour	Catabolisme hépatique	Hématologiques	Infections à CMV

* adaptation à la fonction rénale démontrée. 5-FU : 5-fluoro-uracile ; ATU : autorisation temporaire d'utilisation ; DCI : dénomination commune internationale ;

IV : intra-veineuse ; NA : non applicable ; ND : donnée non disponible. Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

des analogues de la guanosine naturelle, ainsi que leurs prodrogues respectives le valaciclovir (VACV) et le valganciclovir (VGCV) permettant une administration *per os* efficace grâce à une meilleure biodisponibilité. Ces prodrogues sont des esters L-valyl d'ACV et de GCV et sont convertis en ACV et GCV, une fois passée la barrière digestive (**figure 2A**). L'ACV (ou acycloguanosine) est un analogue de la 2'-désoxyguanosine dont il se distingue par la présence d'un sucre acyclique (**figure 2A**). Il est actif contre les HSV et le VZV pour lesquels il reste le traitement de référence, d'autant plus qu'il s'agit d'une molécule antivirale quasiment atoxique très sélective des cellules infectées épargnant les cellules saines [3]. Le GCV a également une structure proche de la 2'-désoxyguanosine, se différenciant de celle de l'ACV par la présence d'un groupement

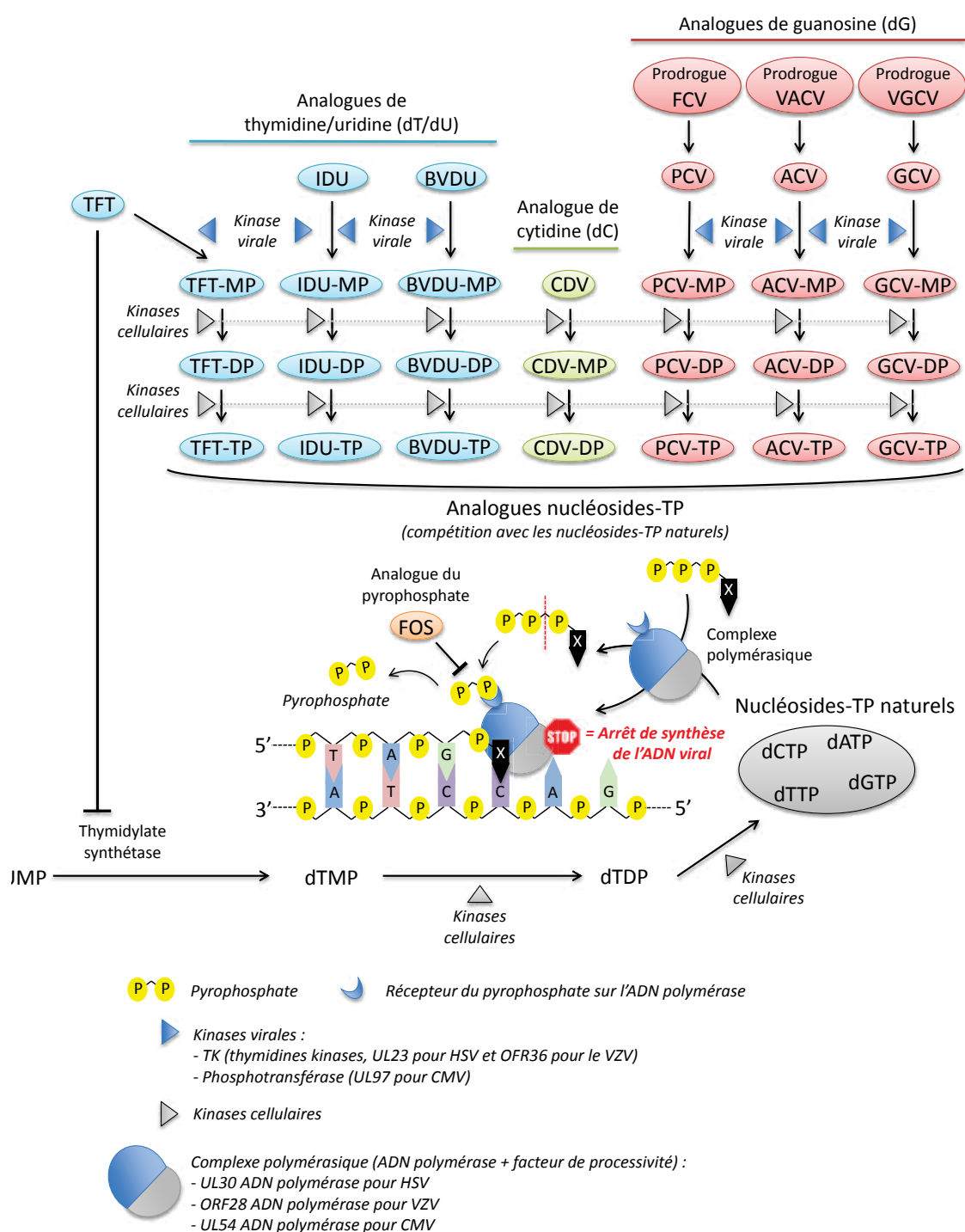
hydroxyméthyl (**figure 2A**). Il est actif contre les HSV et le VZV mais aussi et surtout contre le CMV et le HHV-6. Cette molécule possède une toxicité importante pour les cellules hématopoïétiques, beaucoup plus importante que celle de l'ACV, réduisant donc son utilisation aux cas d'infections à CMV et à HHV-6 [1,4]. Dans l'arsenal thérapeutique anti-herpèsvirus, d'autres analogues nucléosidiques peuvent être utilisés dans de moindres mesures (**figure 2 et tableau I**) : le penciclovir ou 9-(4-hydroxy-3-hydroxyméthylbut-1-yl) guanosine (PCV), également un analogue de la guanosine, et sa prodrogue le famciclovir (FCV), un dérivé diacétate ester du 6-désoxy-PCV développée comme le VACV et le VGCV pour compenser la faible biodisponibilité du PCV par voie orale, des analogues de thymidine/uridine comme la brivudine ou bromovinyl-désoxyuridine (BVDU) et des

Figure 2 – Structure des antiviraux actuellement utilisés en pratique médicale (A) et en cours d'évaluation en essais cliniques (B) pour le traitement des infections à herpèsvirus.

<div><div>A</div><div><p>Idoxuridine (IDU)</p></div></div>	<div><div><p>Trifluridine (TFT)</p></div></div>	<div><div><p>Brivudine (BVDU)</p></div></div>	<div><div><p>5'-GCG TTT GCT CTT CTT GCG-3'</p><p>Fomivirsen</p></div></div>
<div><div><p>Aciclovir (ACV)</p></div></div>	<div><div><p>Valaciclovir (VACV)</p></div></div>	<div><div><p>Penciclovir (PCV)</p></div></div>	<div><div><p>Famciclovir (FCV)</p></div></div>
<div><div><p>Ganciclovir (GCV)</p></div></div>	<div><div><p>Valganciclovir (VGCV)</p></div></div>	<div><div><p>Cidofovir (CDV)</p></div></div>	<div><div><p>Foscarnet (FOS)</p></div></div>

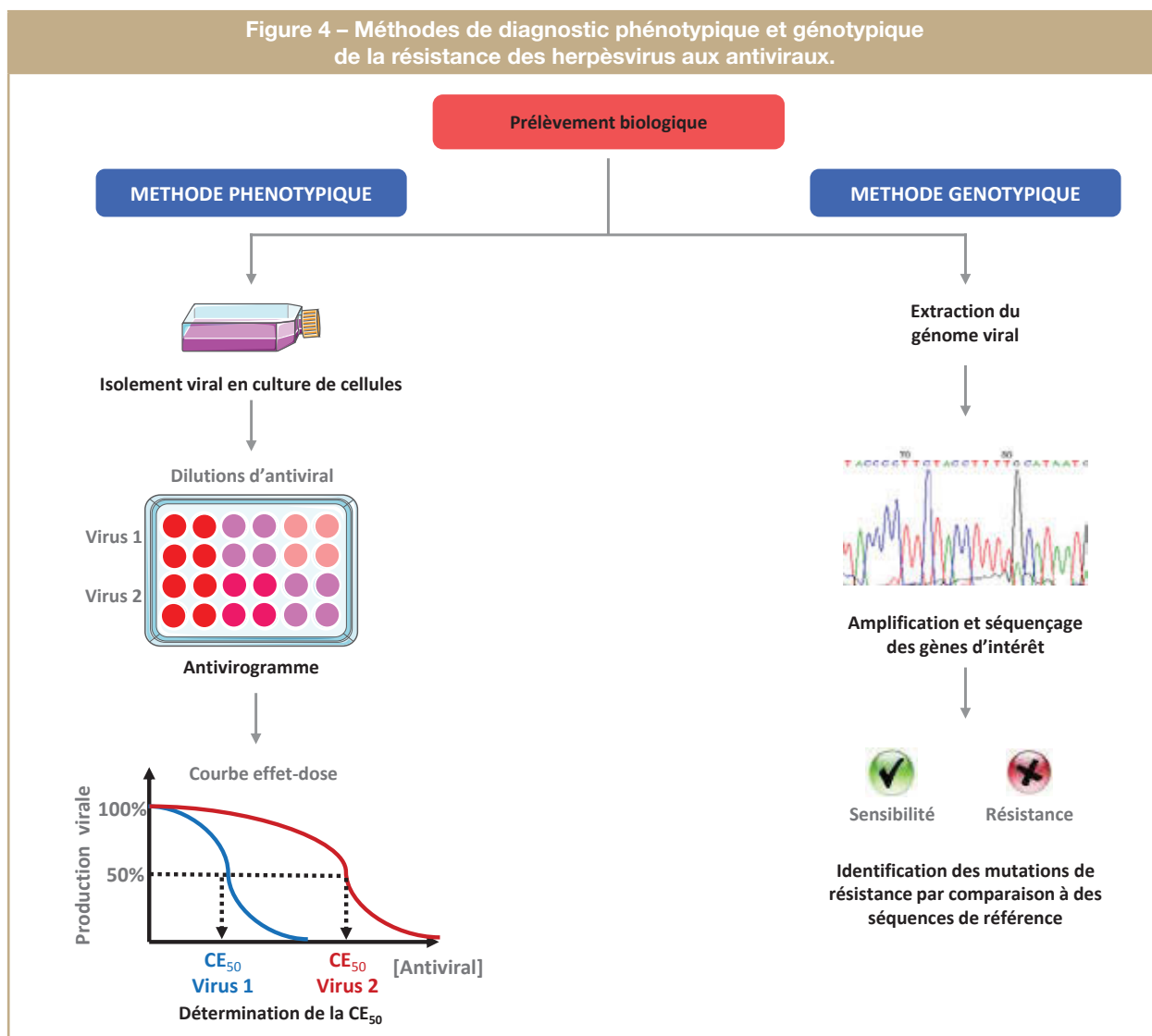
<div><div><div>B</div><div><p>Brincidofovir (BCV)</p></div></div></div>	<div><div><p>Aménamévir</p></div></div>	<div><div><p>Pritélivir</p></div></div>
<div><div><p>FV100</p></div></div>	<div><div><p>Maribavir (MBV)</p></div></div>	<div><div><p>Létermovir (LMV)</p></div></div>
<div><div><p>Artésunate (ART)</p></div></div>	<div><div><p>Cyclopropavir (CPV)</p></div></div>	<div><div><p>Valomaciclovir</p></div></div>

Figure 3 – Mécanisme d'action des inhibiteurs d'ADN polymérase des herpèsvirus.



P : phosphate ; DP : diphosphate ; MP : monophosphate ; TP : triphosphate ; TFT : trifluridine ; IDU : idoxuridine ; BVDU : brivudine ; CDV : cidofovir ; FCV : foscarnet ; PCV : penciclovir ; (V)ACV : (val)aciclovir ; (V)GCV : (val)ganciclovir ; FOS : foscarnet ; dCTP : déoxycytidine triphosphate ; dATP : déoxyadénine triphosphate ; dTTP : déoxythymidine triphosphate ; dGTP : déoxyguanosine triphosphate.

Figure 4 – Méthodes de diagnostic phénotypique et génotypique de la résistance des herpesvirus aux antiviraux.



molécules qui en sont dérivées comme l'idoxuridine ou iododésoxyuridine (IDU) et la trifluridine ou trifluorothymidine (TFT) avec respectivement un atome d'iode et un radical trifluorométhyl modifiant la base azotée. En raison de leur toxicité par voie systémique, l'IDU et le TFT sont utilisés uniquement en traitements locaux sous forme de collyres pour les cas de kératites à HSV (*figure 2A et tableau I*) [2]. L'ensemble des analogues nucléosidiques inhibent l'ADN polymérase virale par un mécanisme de compétition et/ou de ralentissement de la synthèse d'ADN. En effet, lorsqu'ils sont incorporés dans le brin d'ADN en cours de synthèse, aucune liaison phosphodiester n'est possible avec le nucléotide suivant, ajoutant ainsi au mécanisme de concurrence avec les désoxynucléosides triphosphates (dNTP) naturels un phénomène de terminaison de chaîne (*figure 3*). Pour être actif, ils doivent être transformés en molécules triphosphates. La première étape de phosphorylation est effectuée par une kinase virale synthétisée dans les cellules infectées : la thymidine kinase (TK) des HSV (UL23) et du VZV (ORF36) pour l'ACV, le PCV, la BVDU, le TFT et l'IDU ; la phosphotransférase du CMV (UL97)

et du HHV-6 (U69) pour le GCV. Les analogues nucléotidiques tels que le cidofovir (CDV) ont une structure proche de celle des nucléosides monophosphates naturels et agissent indépendamment de l'action des enzymes virales de phosphorylation, TK ou phosphotransférase (*figure 3*). Le CDV ou (S)-1-(3-hydroxy-2-[phosphonométhoxy] propyl) cytosine dihydrate (HPMPC) est un composé acyclique phosphonate analogue de la 2'-désoxycytidine (*figure 2A*). Malgré sa toxicité rénale, ce composé constitue un possible recours dans les infections sévères à HSV, VZV, CMV et HHV-6 quand il existe une résistance aux molécules anti-herpétiques dépendant des enzymes virales de phosphorylation. Cette molécule antivirale possède une demi-vie d'élimination élevée notamment sous sa forme diphosphate conjuguée à la choline ce qui explique certainement son action prolongée. La forme orale du CDV possède une très faible biodisponibilité du fait de la présence du groupement phosphate. En effet, le CDV est sous forme dianionique au pH physiologique ce qui interfère avec son passage au travers de la barrière intestinale. Administré par voie intraveineuse après une pré-hydratation par une solution saline,

le CDV est néphrotoxique et doit donc être associé à une administration simultanée de probénécide (Bénémidé®), protecteur des voies urinaires. Ce principal effet indésirable est dû à la concentration du CDV dans les cellules tubulaires rénales (**tableau I**) [2]. Pour les deux types d'analogues, nucléosidiques et nucléotidiques, les deux phosphorylations supplémentaires pour obtenir la forme triphosphate active sont effectuées par des kinases cellulaires (**figure 3**). Le foscarnet (FOS) ou acide phosphonoformique est, quant à lui, un analogue de pyrophosphate qui exerce son activité inhibitrice sans phosphorylation intracellulaire préalable (**figure 2A**). L'inhibition de l'ADN polymérase virale est directe et compétitive, puisque le FOS bloque de façon réversible le site de liaison du pyrophosphate sur l'ADN polymérase elle-même lors de l'élongation de la chaîne d'ADN (**figure 3**). Après administration intraveineuse, le FOS n'est pas métabolisé et est éliminé tel quel par voie rénale. Une néphrotoxicité réversible à l'arrêt du traitement est souvent observée [2]. Malgré la toxicité rénale du CDV et du FOS, ils constituent un recours dans les infections sévères à HSV, VZV et CMV quand il existe une résistance aux molécules antiherpétiques dépendant des enzymes virales de phosphorylation (**tableau I**) [1,3]. Parallèlement à ces antiviraux inhibiteurs de l'ADN polymérase virale, il existe un médicament avec un mécanisme d'action plus complexe utilisé pour soigner certains cas de rétinites à CMV chez les patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) : le fomivirsen (**tableau I**). Il s'agit d'un oligonucléotide phosphorothioate synthétisé pour inhiber la réplication du CMV selon un mécanisme antisens par complémentarité avec l'ARN messager cible, inhibant alors sa traduction. Le fomivirsen a montré une puissante activité antivirale contre des isolats cliniques de CMV résistants au GCV, au FOS et au CDV. L'expérience avec ce médicament étant limitée, le fomivirsen ne doit être utilisé qu'en cas d'échec thérapeutique [5].

2.2. Résistance aux antiviraux

Les herpèsvirus, en tant que virus à ADN, sont communément considérés comme plus stables génétiquement que les virus à ARN. En effet, leur ADN polymérase est beaucoup plus fidèle que la transcriptase inverse du HIV ou l'ARN polymérase du virus de l'hépatite C (HCV). Si la fréquence de la résistance des herpèsvirus est incontestablement moindre que celle du HIV, sa conséquence médicale mérite d'être prise en compte [1,3,4,6]. Devant la persistance de signes cliniques et/ou une absence de diminution de la charge virale malgré l'instauration d'un traitement antiviral bien conduit, la résistance clinique est évoquée. Différents facteurs peuvent être responsables de l'inefficacité d'un traitement antiherpétique :

- Facteur pharmacologique : mauvaise observance du traitement par le patient, dose insuffisante d'antiviral, catabolisme augmenté, faible concentration de l'antiviral au site de l'infection ou mauvaise diffusion de l'antiviral (liquide céphalo-rachidien [LCR], humeur aqueuse...).
- Facteur immunologique : patient avec une immunodépression cellulaire T sévère
- Facteur virologique : présence de mutations de résistance au niveau des gènes viraux qui codent les enzymes cibles des antiviraux antiherpétiques

La sélection et l'apparition de mutants résistants est favorisée par le degré d'immunosuppression, l'utilisation prolongée de traitements prophylactiques ou curatifs antiherpétiques et la présence de lésions extensives et persistantes associées à une production virale intense. L'émergence de mutants résistants et la réplication virale sont intimement liées : le maintien d'un niveau élevé de réplication virale du fait d'une réponse immunitaire inadaptée, générateur de mutations sur l'ensemble du génome, sous pression de sélection du traitement favorise le développement de la résistance. La résistance pose essentiellement des problèmes chez les patients immunodéprimés. L'observation d'une prévalence accrue de résistance en situation d'immunodépression a été observée à plusieurs reprises quel que soit le virus concerné : de nombreuses études sont disponibles dans la littérature pour les HSV et le CMV et quelques observations ponctuelles sont rapportées pour le VZV et le HHV-6 [1,3,4,6,7].

La détection de la résistance aux antiviraux est effectuée soit selon une approche phénotypique (mesure de la concentration de l'antiviral inhibant 50 % de la multiplication virale [CE50, concentration efficace 50 %] de la souche virale à tester) qui requiert d'isoler la souche virale en culture de cellules, soit selon une approche génotypique (séquençage des gènes d'intérêt) (**figure 4**) [1,3,4,8,9]. La participation d'une autre enzyme virale (TK ou phosphotransférase) au mécanisme d'inhibition de l'ADN polymérase virale renforce la sélectivité des molécules antivirales actuellement disponibles qui n'expriment pas leur toxicité potentielle dans les cellules saines. Les mutations responsables de la résistance acquise concernent le plus fréquemment les enzymes virales de phosphorylation, et moins souvent, le gène de l'ADN polymérase. Ce sont donc ces deux gènes précisément qui sont analysés pour détecter la résistance aux antiviraux. L'approche génotypique permet de s'affranchir de l'isolement en culture de cellules qui peut être délicat voire impossible pour certains virus et/ou types de prélèvements (LCR et prélèvements oculaires, par exemple), puisqu'il est possible de l'effectuer directement à partir des prélèvements biologiques. Le rendu de résultat en moins d'une semaine offre également la possibilité aux cliniciens de pouvoir rapidement adapter le traitement antiviral pour un patient en échec thérapeutique et chez qui une résistance à un antiviral est mise en évidence. Cependant, l'étude de la résistance génotypique des herpèsvirus aux antiviraux se heurte au problème de la méconnaissance, en particulier pour les HSV et le VZV, du polymorphisme naturel (mutations n'ayant aucun impact sur la sensibilité des souches) et des mutations de résistance au niveau des enzymes impliquées dans le mécanisme d'action des antiviraux. L'interprétation des résultats dépend des mutations identifiées. Dans le cas des mutations dont le rôle est incertain ou inconnu, il peut être intéressant de réaliser un test phénotypique. À ce jour, la technique de référence pour la détection génotypique de la résistance des herpèsvirus aux antiviraux est le séquençage classique par la technologie de type Sanger (**figure 4**). Malheureusement cette approche peut être prise en défaut lorsque les charges virales sont faibles. De plus, cette approche ne permet pas de détecter les variants minoritaires présents au sein de la population virale puisque le seuil de

détection est fixé à environ 20 %. Au contraire, les nouvelles technologies de séquençage haut-débit dites NGS (« *next-generation sequencing* ») permettent d'améliorer grandement la détection de l'ensemble des variants [10].

2.3. Antiviraux évalués en essais cliniques (phases 2-3)

Que ce soit pour HSV, VZV, CMV ou HHV-6, les cas d'échec thérapeutique existent chez les patients traités, que l'origine soit pharmacologique, immunologique ou virologique. Si la détection d'une souche multi-résistante aux antiviraux classiques est une possibilité de l'inefficacité d'un traitement, les effets indésirables (hématotoxicité et néphrotoxicité) des molécules peuvent également compliquer ces situations d'impasse thérapeutique. L'émergence de mutants résistants paraît en grande partie inéluctable mais on peut gérer cette émergence et limiter son impact négatif. Il est donc important de disposer de tests détectant précocement la résistance et indispensable de développer de nouvelles drogues antiherpèsvirus appartenant à des classes thérapeutiques distinctes.

Actuellement, une prodrogue du CDV est en cours d'évaluation clinique : le brincidofovir (BCV). Il s'agit d'un dérivé ester lipidique du CDV, l'hexadécyloxypropylcidofovir (HDP-CDV) ou CMX-001 (Figure 2B). Cette molécule possède, comme le CDV, un large spectre antiviral. En revanche, il peut être administré par voie orale et les premiers essais démontrent une très bonne tolérance de ce produit contrairement au CDV [11]. Cette molécule est actuellement en essai clinique de phase 3. Au niveau du cycle réplcatif viral, toutes les étapes peuvent être des cibles thérapeutiques potentielles, de l'entrée du virus dans la cellule à la libération des particules virales infectieuses néoformées. D'autres enzymes que l'ADN polymérase ont été ciblées dans le développement d'antiviraux dirigés contre les herpèsvirus. Le complexe hélicase/primase joue également un rôle indispensable dans la réplcation de l'ADN viral en permettant de dérouler l'ADN viral double brin (hélicase) et de produire des amorces (primase) pour initier la synthèse d'ADN par l'ADN polymérase virale (figure 1). Ce complexe est la cible de nouveaux antiviraux prometteurs, l'aménamévir (actif sur les HSV et le VZV) et le pritélivir (actif sur les HSV seulement). L'aménamévir est un composé de structure chimique de type oxadiazolylphényl qui est administré par voie orale et qui possède peu d'effets indésirables de type nausées et diarrhées. Le pritélivir est un dérivé de type thiazolamide très bien toléré qui existe sous formes galéniques orale et topique (figure 2A et tableau I) [12].

Au début des années 2000, certains auteurs ont rapporté l'activité et la sélectivité remarquables sur le VZV de furano-pyrimidines (analogues bicycliques de nucléosides) présentant une longue chaîne alkyle. Le composé le plus actif à ce jour consiste en une forme prodrogue de type ester valyl du composé Cf1743 : le FV100 (figure 2A). Actuellement en essai clinique de phase 3, cette molécule prometteuse est étonnamment sélective du VZV, les tests réalisés sur les HSV et le CMV ont révélé une absence totale d'activité alors qu'il est sensible à la

phosphorylation par les kinases virales des HSV, du CMV et du VZV. Son mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé [13,14].

L'omaciclovir (H2G) est un autre composé dont la prodrogue orale, le valomaciclovir, débute les essais cliniques (phase 2 pour les infections à VZV) chez l'Homme. Il s'agit d'un analogue de la 2'-desoxyguanosine actif contre plusieurs herpèsvirus dont HSV, VZV et HHV-6 [11,15,16].

Pour lutter spécifiquement contre les infections à CMV, de nouveaux antiviraux sont également en développement. Le maribavir (MBV) est un composé benzimidazolé qui inhibe directement la phosphotransférase du CMV. Cette enzyme intervient dans la phosphorylation de nombreuses protéines impliquées dans la réplcation et l'assemblage des particules virales ainsi que sur la modulation du fonctionnement cellulaire au cours de l'infection virale, comme notamment la protéine accessoire UL44 de l'ADN polymérase UL54 du CMV (figures 1 et 2B). Elle intervient aussi dans la phosphorylation du GCV comme indiqué plus haut et on comprend que le MBV soit un antagoniste du GCV (figure 3). Le MBV serait ainsi un recours intéressant contre les souches de CMV résistantes aux antiherpétiques classiques mais son développement a été quelque peu ralenti par des résultats décevants d'essais de phase 3 qui n'a pas montré de supériorité de cette molécule par rapport au placebo dans le traitement prophylactique des infections à CMV chez les patients greffés de CSH. Le MBV fait l'objet d'un autre essai clinique pour le traitement des maladies à CMV résistantes ou réfractaires au GCV ou au FOS (tableau I) [17]. Enfin, le létermovir (LMV) est un inhibiteur spécifique du complexe enzymatique terminase du CMV impliqué dans le clivage et l'encapsidation du génome viral. Il est actuellement utilisé dans des essais thérapeutiques de phase 3 pour la prévention des infections à CMV chez les greffés de CSH où il montre peu d'effets indésirables (figure 3 et tableau I) [18]. L'artésunate (ART), un antipaludéen dérivé de l'artémisinine, est un inhibiteur des voies d'activation des cellules eucaryotes et possède une efficacité *in vitro* et *in vivo* contre le CMV, probablement en inhibant l'expression des protéines très précoces et précoces du virus. Tout comme le LMV, l'ART est actuellement utilisé dans des essais cliniques de phase 3 et sa tolérance est bonne [19,20].

Les molécules aptes à remplacer immédiatement les antiherpétiques « classiques » notamment en cas de résistance sont peu nombreuses mais certaines molécules sont prometteuses. Les efforts pour accélérer la découverte de nouvelles molécules, favoriser leur développement préclinique et aboutir à une mise sur le marché doivent se poursuivre. Le phénomène de la résistance des herpèsvirus aux antiviraux ne saurait étonner en soi puisque tout anti-infectieux spécifique est susceptible de sélectionner des virus résistants. Cela représente d'ailleurs la meilleure preuve de l'efficacité des molécules antivirales. Si à ce jour des mutations de résistances aux antiviraux en développement ont déjà été retrouvées (notamment dans le cas des inhibiteurs du complexe hélicase-primase) chez des souches de laboratoires et des isolats cliniques soumis à une pression de sélection antivirale *in vitro*, aucune d'entre elles n'a été associée à des échecs thérapeutiques chez les patients lors des essais cliniques [21].

2.4. Futurs antiviraux (essais cliniques de phase 1, développement)

Dans le domaine des antiherpétiques, d'autres molécules sont en cours de développement. Ainsi, le cyclopropavir (CPV), un analogue méthylénecyclopropane du GCV, montre une activité *in vitro* contre le CMV et le HHV-6 et est actuellement utilisé dans des essais initiaux de phase 1. Son mode d'action passerait par une inhibition de la phosphotransférase du CMV, ce qui expliquerait l'antagonisme avec le GCV, comme dans le cas du MBV [22].

3. Prise en charge thérapeutique des infections à γ -herpèsvirus

Différents antiviraux qui viennent d'être décrits sont capables d'inhiber *in vitro* la réplication de l'EBV et du HHV-8 [23]. Toutefois, comme indiqué précédemment, les pathologies associées à ces virus *in vivo* consistent essentiellement en des proliférations cellulaires malignes : lymphoprolifération (PTLD [*Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder*], lymphomes, maladie de Castleman, carcinomes [carcinome du nasopharynx], proliférations vasculaires [maladie de Kaposi]) [24]. Dans ce cas, la réplication virale active est très faible, voire inexistante, et par conséquent l'action des antiviraux reste très modeste. En pratique, la prise en charge de ce type de pathologies fait appel, selon les cas, à différentes stratégies thérapeutiques : diminution de l'immunodépression du patient, immunothérapie (utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD20 comme le rituximab), chimiothérapie anticancéreuse, radiothérapie, ou encore exérèse chirurgicale [25]. Dans le cas des lymphoproliférations induites par l'EBV, l'utilisation d'inhibiteurs d'histone désacétylases a été proposée, conjointement avec des inhibiteurs de la réplication virale, pour réactiver et détruire le génome viral présent sous forme épisomale dans le noyau cellulaire [26,27].

4. Alternatives thérapeutiques

D'autres stratégies thérapeutiques peuvent être utilisées pour le traitement des infections à herpèsvirus. Il s'agit principalement d'intervenir au niveau du système immunitaire du patient afin de favoriser la lutte contre l'infection virale. L'imiquimod et la thalidomide sont des immunomodulateurs qui peuvent être utilisés pour le traitement de certaines infections à HSV [28]. Par ailleurs, une activité antiherpèsvirus, notamment anti-CMV, a été mise en évidence pour certains immunosuppresseurs comme le léflunomide ou les inhibiteurs de mTOR (sirolimus, évérolimus) [29]. Enfin, l'immunothérapie adoptive, qui consiste à injecter au patient des lymphocytes T spécifiques de l'herpèsvirus responsable de l'infection en cours, semble une stratégie très prometteuse [30].

5. Conclusion

Les infections à herpèsvirus constituent un problème de santé majeur, notamment parmi les populations de patients immunodéprimés. Depuis une quarantaine d'années, les succès de la chimiothérapie antivirale dirigée contre les herpèsvirus sont incontestables. Toutefois, ces progrès doivent être consolidés et étendus, avec notamment la mise sur le marché de nouvelles molécules antivirales ciblant des enzymes virales différentes, afin d'éviter les problèmes de résistance croisée et permettant par ailleurs de réaliser des associations potentiellement synergiques, et possédant un minimum d'effets indésirables. La prise en charge des proliférations cellulaires viro-induites (EBV, HHV-8) reste difficile. L'immunothérapie cellulaire T antivirale constitue une nouvelle approche très prometteuse pour la prise en charge thérapeutique des infections à herpèsvirus.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Lurain NS, Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:689–712.
- [2] De Clercq E. Selective anti-herpesvirus agents. *Antivir Chem Chemother* 2013; 23:93–101.
- [3] Piret J, Boivin G. Antiviral drug resistance in herpesviruses other than cytomegalovirus. *Rev Med Virol* 2014; 24:186–218.
- [4] Prichard MN, Whitley RJ. The development of new therapies for human herpesvirus 6. *Curr Opin Virol* 2014; 9:148–153.
- [5] Mescallchin A, Restle T. Oligomeric nucleic acids as antivirals. *Mol Basel Switz* 2011; 16:1271–1296.
- [6] Campos AB, Ribeiro J, Boutolleau D, et al. Human cytomegalovirus antiviral drug resistance in hematopoietic stem cell transplantation: current state of the art. *Rev Med Virol* 2016; 26:161–182.
- [7] Sauerbrei A, Bohn-Wippert K, Kaspar M, et al. Database on natural polymorphisms and resistance-related non-synonymous mutations in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus types 1 and 2. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71:6–16.
- [8] Boutolleau D, Deback C, Bressollette-Bodin C, et al. Resistance pattern of cytomegalovirus (CMV) after oral valganciclovir therapy in transplant recipients at high-risk for CMV infection. *Antiviral Res* 2009; 81:174–179.
- [9] Burrell S, Deback C, Agut H, et al. Genotypic characterization of UL23 thymidine kinase and UL30 DNA polymerase of clinical isolates

of herpes simplex virus: natural polymorphism and mutations associated with resistance to antivirals. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:4833–4842.

- [10] Chou S, Ercolani RJ, Sahoo MK, et al. Improved detection of emerging drug-resistant mutant cytomegalovirus subpopulations by deep sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:4697–4702.
- [11] De SK, Hart JCL, Breuer J. Herpes simplex virus and varicella zoster virus: recent advances in therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2015; 28:589–595.
- [12] Whitley RJ, Prichard M. A novel potential therapy for HSV. *N Engl J Med* 2014; 370:273–274.
- [13] McGuigan C, Balzarini J. FV100 as a new approach for the possible treatment of varicella-zoster virus infection. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64:671–673.
- [14] Migliore M. FV-100: the most potent and selective anti-varicella zoster virus agent reported to date. *Antivir Chem Chemother* 2010; 20:107–115.
- [15] Tyring SK, Plunkett S, Scribner AR, et al. Valaciclovir versus valganciclovir for the treatment of acute herpes zoster in immunocompetent adults: a randomized, double-blind, active-controlled trial. *J Med Virol* 2012; 84:1224–1232.
- [16] Bonnafeous P, Agut H. Activity of H2G on human herpesvirus-6B strains either sensitive or resistant to ganciclovir. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol* 2010; 48:153–154.

- [17] Boutolleau D, Burrel S, Agut H. Genotypic characterization of human cytomegalovirus UL97 phosphotransferase natural polymorphism in the era of ganciclovir and maribavir. *Antiviral Res* 2011; 91:32–35.
- [18] Melendez DP, Razonable RR. Letemovir and inhibitors of the terminase complex: a promising new class of investigational antiviral drugs against human cytomegalovirus. *Infect Drug Resist* 2015; 8:269–277.
- [19] Drouot E, Piret J, Boivin G. Artesunate demonstrates in vitro synergism with several antiviral agents against human cytomegalovirus. *Antivir Ther* 2016 Feb 4.
- [20] Boeckh M, Murphy WJ, Peggs KS. Recent advances in cytomegalovirus: an update on pharmacologic and cellular therapies. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant* 2015; 21:24–29.
- [21] Edlefsen PT, Birkmann A, Huang M-L, et al. No Evidence of Pritelivir Resistance Among Herpes Simplex Virus Type 2 Isolates After 4 Weeks of Daily Therapy. *J Infect Dis* 2016 Apr 7.
- [22] Prichard MN, Williams JD, Komazin-Meredith G, et al. Synthesis and antiviral activities of methylenecyclopropane analogs with 6-alkoxy and 6-alkylthio substitutions that exhibit broad-spectrum antiviral activity against human herpesviruses. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:3518–3527.
- [23] Coen N, Duraffour S, Topalis D, et al. Spectrum of activity and mechanisms of resistance of various nucleoside derivatives against gammaherpesviruses. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:7312–7323.
- [24] Cesarman E. Gammaherpesviruses and lymphoproliferative disorders. *Annu Rev Pathol* 2014; 9:349–372.
- [25] Green M. Management of Epstein-Barr virus-induced post-transplant lymphoproliferative disease in recipients of solid organ transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2001; 1:103–108.
- [26] Ghosh SK, Perrine SP, Williams RM, et al. Histone deacetylase inhibitors are potent inducers of gene expression in latent EBV and sensitize lymphoma cells to nucleoside antiviral agents. *Blood* 2012; 119:1008–1017.
- [27] Perrine SP, Hermine O, Small T, et al. A phase 1/2 trial of arginine butyrate and ganciclovir in patients with Epstein-Barr virus-associated lymphoid malignancies. *Blood* 2007; 109:2571–2578.
- [28] Sbidian E, Battistella M, Legoff J, et al. Recalcitrant pseudotumoral anogenital herpes simplex virus type 2 in HIV-infected patients: evidence for predominant B-lymphoplasmocytic infiltration and immunomodulators as effective therapeutic strategy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2013; 57:1648–1655.
- [29] Brennan DC, Aguado JM, Potena L, et al. Effect of maintenance immunosuppressive drugs on virus pathobiology: evidence and potential mechanisms. *Rev Med Virol* 2013; 23:97–125.
- [30] Leen AM, Heslop HE, Brenner MK. Antiviral T-cell therapy. *Immunol Rev* 2014 ; 258:12–29.

Les nouveaux traitements de l'hépatite C

Joël Gozlan^a

RÉSUMÉ

La majorité des sujets infectés par le virus de l'hépatite C développe une infection chronique du foie pouvant aboutir, en l'absence de traitement, à des complications hépatiques sévères, telles que la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire. Un traitement antiviral peut en revanche guérir cette infection chronique, réduisant ainsi la morbidité et mortalité hépatique qui lui sont associées.

La prise en charge thérapeutique de l'hépatite C connaît depuis quelques années des avancées décisives, grâce au développement d'antiviraux directs dont la combinaison permet aujourd'hui de guérir une grande majorité des patients traités. Nous reviendrons dans cet article sur ces avancées thérapeutiques ainsi que sur les combinaisons thérapeutiques disponibles, avant de détailler les principaux enjeux du futur de cette prise en charge.

Antiviraux directs - guérison - virus de l'Hépatite C

1. Introduction

L'infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC) est un problème majeur de santé publique, concernant environ 150 millions de sujets à l'échelon mondial [1]. Par ses complications terminales (cirrhose et carcinome hépatocellulaire essentiellement), cette infection reste responsable d'une mortalité estimée à 500 000 patients par an [2] et représente la première cause de transplantation hépatique. L'hépatite chronique C est pourtant la seule infection virale persistante qui peut être guérie sous traitement.

La prise en charge thérapeutique de l'hépatite chronique C connaît depuis quelques années une véritable révolution, par l'avènement d'antiviraux directs (DAA pour « *Direct-Acting Antiviral* ») très efficaces, dirigés contre des étapes clés du cycle viral. Le traitement de référence, qui était jusqu'en 2011 l'association de Peg-Interféron (Peg-IFN) et de Ribavirine (RBV), a ainsi été totalement remplacé par l'association de ces DAA, plus efficaces, mieux tolérés, administrables par voie orale et sur des durées de traitement plus court. La combinaison de 2 ou 3 de ces molécules permet aujourd'hui l'obtention de taux élevés (supérieurs à 90 %) de réponse virologique soutenue (RVS), signifiant la guérison.

^a Département de Virologie
Hôpital Saint Antoine
184 rue du Faubourg Saint-Antoine
75571 Paris Cedex 12

correspondance
joel.gozlan@sat.aphp.fr

article reçu le 30 août 2016, accepté le 30 septembre 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

New therapies against HCV

The majority of individuals infected with hepatitis C virus (HCV) will develop a chronic liver infection which may spontaneously evolve to severe liver diseases such as cirrhosis or hepatocellular carcinoma. However, antiviral therapy can cure chronic hepatitis C, thus reducing the morbidity and mortality of the disease by the prevention of these terminal liver conditions. Therapy against HCV has recently entered in a new era, with the development of new direct acting antiviral agents (DAA) which succeed in curing the large majority of the treated patients. This paper will review these major advances, detailing the new molecules and combinations that are available and focusing on the next issues of the future.

Direct acting antiviral agents - HCV cure - Hepatitis C Virus

2. Le virus et les cibles des antiviraux directs

Le VHC est un petit virus enveloppé de 60 nm de diamètre, appartenant à la famille des *Flaviviridae*. Sept génotypes ont été décrits, répartis inégalement en fonction de la zone géographique concernée et/ou des facteurs de risques. Son génome est un ARN simple brin de 9600 nucléotides, à polarité positive codant pour une polyprotéine qui sera clivée de façon co- et post-traductionnelle en 10 protéines structurales et non structurales. La **figure 1** résume les principales étapes du cycle viral, ainsi les cibles potentielles des antiviraux directs.

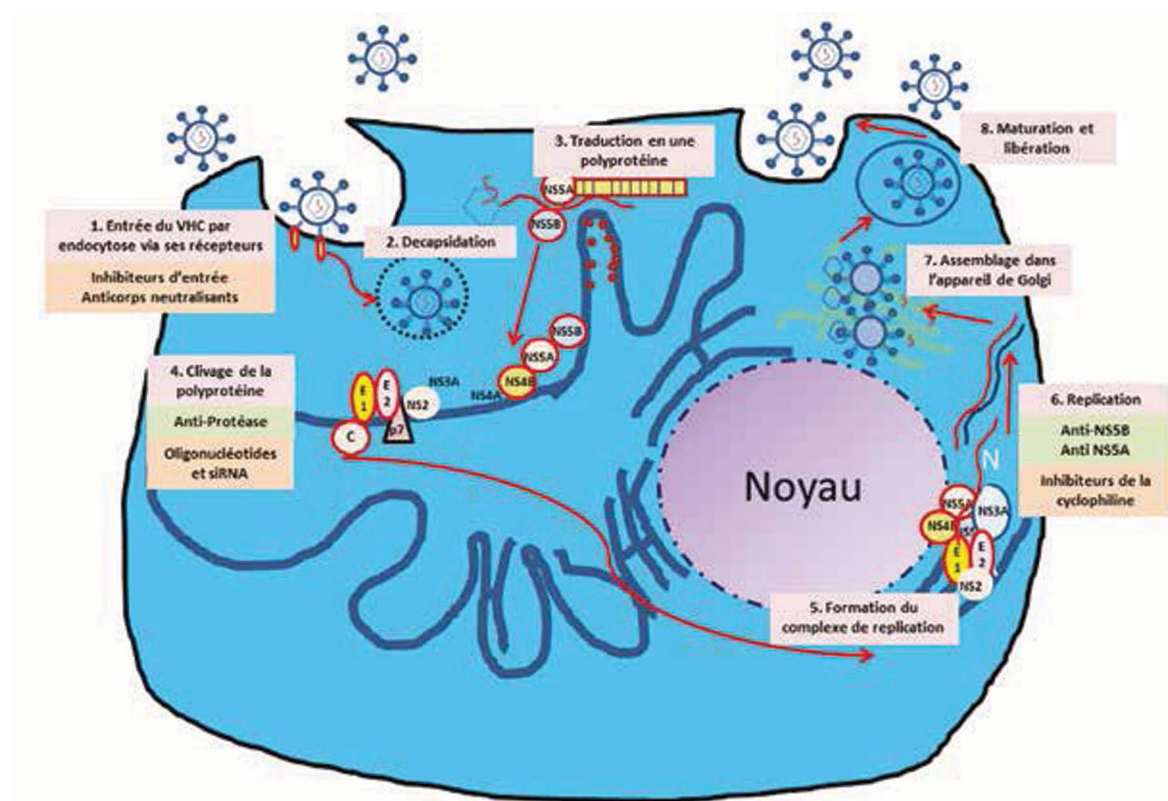
Ce sont 3 protéines non structurales qui constituent aujourd'hui les cibles de ces DAA, à savoir :

- a La protéine NS3/4A, qui est la protéase virale assurant le clivage de la polyprotéine
- b La protéine NS5A, qui est une phosphoprotéine impliquée à la fois dans la réplication virale et dans sa capacité à moduler les réponses de type interféron
- c La protéine NS5B, qui est la polymérase virale, assurant à ce titre la réplication virale.

3. Les classes de DAA et les molécules disponibles

Le **tableau 1** présente les molécules commercialisées en France en 2016. Certaines ne sont disponibles qu'au sein de médicaments « combo » associant en un seul comprimé deux molécules de différentes classes.

Figure 1 – Cycle du VHC et cibles thérapeutiques.



Les principales étapes du cycle du VHC dans l'hépatocyte sont figurées dans des cadres numérotés de 1 à 8.
Les classes de molécules disponibles (cadre vert) ou en développement (cadre beige) sont indiquées sous l'étape ciblée.

DR

Tableau I – Les antiviraux directs anti-VHC disponibles en 2016

Classes thérapeutiques	Molécules	Nom commercial	Posologie
Inhibiteurs de protéase NS3/4A	Simeprevir	Olysio	1 comprimé (150 mg) / j
	Paritaprevir/ritonavir	cf «Combo»	
	Grazoprevir	cf «Combo»	
Inhibiteurs de NS5A	Daclastavir	Daklinza	1 comprimé (30, 60 ou 90 mg) / j
	Ledispavir	cf «Combo»	
	Ombitasvir	cf «Combo»	
	Elbasvir	cf «Combo»	
Inhibiteurs de NS5B			
Inhibiteurs nucleos(t)idiques	Sofosbuvir	Sovaldi	1 comprimé (400 mg) / j
Inhibiteurs non nucleosidiques	Dasabuvir	Exviera	1 comprimé (250 mg) matin et soir
Molécules «Combo»	Sofosbuvir + Ledipasvir	Harvoni	1 comprimé (400 mg Sofo et 90 mg Ledi) / j
	Paritaprevir/r + Ombitasvir	Viekirax	2 comprimés en une prise / j
	Grazoprevir + Elbasvir	Zepatier	1 comprimé (100 mg Grazo et 10 mg Elba) / j

3.1. Les inhibiteurs de la protéase (IP) NS3/A4

La protéase virale a été la première cible des DAA, avec la mise à disposition en 2011 de deux premières molécules, le Telaprevir et le Boceprevir. Ces inhibiteurs ont permis une augmentation significative des taux de RVS lors du traitement des génotypes 1 [3], mais n'étaient indiquées que pour ce génotype et en association avec le Peg-IFN et la RBV, au prix d'une tolérance médiocre. Ces produits ont été, dès 2013, supplantés par des molécules moins toxiques, plus efficaces et surtout utilisables sans nécessité de recourir à l'interféron.

3.1.1. Simeprevir

En dépit d'une activité antivirale probablement plus large, les indications de ce premier IP de deuxième génération sont limitées aux génotypes 1, en association avec l'anti-NS5B Sofosbuvir [4, 5].

3.1.2. Paritaprevir/ritonavir

Ce second IP de deuxième génération, « boosté » par du ritonavir, est disponible sous forme combinée avec l'anti NS4A Ombistavir. Cette association est remarquablement efficace, en association avec l'anti-NS5B Dasabuvir (combinaison dite « 3D ») sur les génotypes 1 [6, 7] et sans Dasabuvir, (combinaison dite « 2D ») sur les génotypes 4 [8].

3.1.3. Grazoprevir

Cet IP, doté d'une activité pan-génotypique, est lui aussi disponible sous une forme combinée avec l'anti NS4A Elbasvir. Cette association a démontré dans différents essais une excellente efficacité sur les génotypes 1, 4 et 6 [9], y compris chez des patients en échec de traitement antérieur par des AAD [10]. L'intérêt supplémentaire de cette association prochainement disponible, est sa facilité d'utilisation sans adaptation posologique en cas d'insuffisance rénale sévère [11].

3.2. Les inhibiteurs de la polymérase NS5B.

3.2.1. Sofosbuvir

Cet analogue nucléotidique, doté d'une grande efficacité pan-génotypique et d'une haute barrière de résistance, est utilisé dans une majorité des combinaisons actuellement recommandées. Il peut être associé à tout type de molécules d'une autre classe thérapeutique, mais il est principalement prescrit sous forme d'un comprimé « combo » l'associant à l'anti-NS5A Ledipasvir [12-15].

3.2.2. Dasabuvir

Il s'agit d'un inhibiteur non nucléosidique, réservé au seul traitement, en association avec la molécule combinée Paritaprevir/Ritonavir/Ombistavir, des génotypes 1 [6, 7].

3.3. Les inhibiteurs de NS5A.

3.3.1. Daclastavir

Cet inhibiteur possède une excellente activité pan-génotypique, démontrée dans de nombreux essais en association avec le sofosbuvir [16, 17]. Le Daclastavir est notamment efficace sur le génotype 3 [18], qui est aujourd'hui le génotype le plus difficile à traiter et pour lequel il est le seul anti-NS5A à avoir l'AMM.

3.3.2. Ledipasvir

Cet autre inhibiteur, uniquement disponible sous forme combiné avec le Sofosbuvir, est très utilisé en raison de sa facilité d'utilisation et de sa remarquable activité sur les génotypes 1, 4, 5 et 6 [12-15]. Il ne doit en revanche pas être prescrit pour les infections par un génotype 2 et 3.

3.3.3. Ombistavir

Cet anti-NS5A est uniquement utilisé pour le traitement des génotypes 1, en association avec la molécule combo Paritaprevir/ritonavir/Dasabuvir (combinaison « 3D ») [6, 7]

3.3.4. Elbasvir

Cet inhibiteur prochainement disponible en France, est efficace, en association avec le Grazoprevir, sur les génotypes 1, 4 et 6 [9].

4. Autres agents

4.1. Le Peg-IFN

Hormis d'exceptionnels cas particuliers, ce traitement de référence historique de l'hépatite C ne doit plus être utilisé, en raison de sa mauvaise tolérance, notamment chez le patient cirrhotique sévère.

4.2. La Ribavirine

L'addition de cette molécule, également « historique », aux combinaisons de DAA reste en revanche d'actualité chez certains patients, notamment les plus difficiles à traiter [19]. Cette addition permettrait de gagner quelques points dans le pourcentage de RVS et/ou de raccourcir la durée de traitement optimal (*tableau II*). Les futurs traitements en cours de développement et/ou d'évaluation devraient permettre de se passer de ce médicament qui reste toxique sur l'hématopoïèse.

4.3. Host-targeting agents

Des données encourageantes avaient été rapportées pour certaines molécules en développement agissant sur l'hôte, notamment l'inhibiteur de la cyclophiline A : l'Alisporivir [20] et le micro RNA miR 122 : le Miravirsén [21]. L'avenir clinique de ces molécules paraît néanmoins compromis en raison de l'efficacité et de la facilité d'action des DAA.

5. Les indications: qui traiter en 2016... et dans un futur proche

Les objectifs du traitement sont la guérison virologique, définie par la RVS [22]. Cette guérison diminue la mortalité et le risque de décompensation hépatique, y compris chez des patients présentant une fibrose importante [23] et réduit, sans pour autant faire disparaître totalement, le risque de survenue d'un carcinome hépatocellulaire chez le sujet cirrhotique [24]. La surveillance de ces patients doit donc être poursuivie y compris en cas de guérison, tout comme la prise en charge des comorbidités hépatiques (consommation d'alcool, syndrome métabolique).

Tableau II – Recommandations de traitement des patients selon leur génotype

Génotype 1	Traitement	Durée (semaines)
Sans cirrhose		
Naïfs	Sofosbuvir + Ledipasvir	8 à 12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
	Sofosbuvir + Siméprevir (G1b)	12
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir + ribavirine (G1a)	12
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir (G1b)	12
Pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
	Sofosbuvir + Ledipasvir	12
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir + ribavirine (G1a)*	12
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir (G1b) *	12
Cirrhose compensée		
Naïfs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	24
	Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Ledipasvir	24
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir + ribavirine (G1a)*	24
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Dasabuvir (G1b)*	12
Cirrhose décompensée Child B		
Naïfs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	24
	Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Ledipasvir	24

Génotype 2	Traitement	Durée (semaines)
Sans cirrhose		
Naïfs	Sofosbuvir + Ribavirine	12
Naïfs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
	Sofosbuvir + Ribavirine	12
Cirrhose compensée		
Naïfs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
	Sofosbuvir + Ribavirine	24
Cirrhose décompensée		
Naïfs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	24

Tableau II – suite.

Génotype 3	Traitement	Durée (semaines)
Sans cirrhose		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
Cirrhose compensée		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir	24
Cirrhose décompensée		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirine	24
Génotype 4		
Sans cirrhose		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Ledipasvir	12
	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
Cirrhose compensée		
Naifs et pré-traités	Paritaprevir/r + Ombitasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	24
Cirrhose décompensée		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	24
	Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirine	24
Génotype 5 et 6		
Sans cirrhose		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Ledipasvir	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	12
Cirrhose compensée		
Naifs et pré-traités	Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Ledipasvir	24
	Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirine	12
	Sofosbuvir + Daclatasvir	24

* Seulement en cas de traitement antérieur par la combinaison Peg-IFN/Ribavirine.

Pour des raisons économiques, les indications autorisant un remboursement en 2016 sont encore restreintes aux patients atteints de fibrose hépatique avancée (score Metavir au-delà de F2) ou à certaines manifestations extra-hépatiques sévères liées à l'infection virale C, telles que les vascularites avec atteinte rénale ou neurologique ou certains lymphomes B non hodgkiniens, associées à l'infection par le VHC.

Les patients co-infectés VIH/VHC représentent une exception notable à cette restriction puisqu'ils sont éligibles à un traitement remboursable quel que soit leur stade de fibrose, en raison d'un risque d'évolution plus rapide et d'une morbidité hépatique accrue [25].

Cette réglementation est amenée à évoluer dans un futur proche, puisque les recommandations les plus récentes des sociétés savantes préconisent un traitement universel pour tout sujet dépisté comme étant infecté par le virus C (et présentant à ce titre une virémie positive).

6. Les combinaisons approuvées selon les génotypes

Différentes combinaisons thérapeutiques sont préconisées selon le génotype infectant, le stade de fibrose et l'histoire thérapeutique antérieure. Des recommandations de différentes sociétés savantes (EASL, AASLD, AFEF...) sont mises à jour régulièrement et permettent de choisir les meilleures combinaisons en fonction du profil de chaque patient. La majorité de ces combinaisons permettent des taux de RVS supérieurs à 90 %.

Le **tableau II** récapitule les recommandations de l'AFEF, mises à jour en mars 2016. Nous nous sommes limités aux combinaisons effectivement disponibles en avril 2016. Le rapport complet est téléchargeable sur le site de l'AFEF, à l'adresse suivante : www.afef.asso.fr/ckfinder/userfiles/files/recommandations-textes-officiels/Recommandations_AFEF_HepatitisC_Final-02-2016.pdf

Ces combinaisons de DAA ne peuvent actuellement être prescrites qu'après décision collégiale au sein de réunions de concertations pluridisciplinaires (RCP) hospitalières. Outre le génotype infectant, le niveau de fibrose et l'histoire thérapeutique, la décision doit prendre en compte les co-morbidités du patient évalué ainsi que les interactions médicamenteuses, pouvant impacter à la fois sur l'efficacité thérapeutique et sur la tolérance des associations prescrites. Une description détaillée de ces interactions est disponible sur le site : <http://www.hep-druginteractions.org>.

7. Les combinaisons en développement clinique : the « next generation »

De nouvelles combinaisons ont déjà donné des résultats très prometteurs dans des essais de phase 3, avec des taux de réponses supérieurs à 95 %, quels que soient le génotype ou le niveau de fibrose. Ces nouvelles molécules, dites « de nouvelle génération » vont ainsi

émerger dans un futur proche. On retiendra notamment : La molécule « Combo » associant le Sofosbuvir avec le nouvel anti-NS5A Velpatasvir qui a montré dans des essais de phase 3 des taux de réponses de l'ordre de 99 %, quels que soient le génotype et le niveau de fibrose, y compris chez des patients pré-traités [26-27].

La nouvelle combinaison Abbvie associant également en une molécule Combo l'anti NS3 ABT-493 et l'anti-NS5A ABT-530, pour laquelle des résultats préliminaires, encore limités à de petits effectifs, indiquent une remarquable efficacité avec des cures de 8 à 12 semaines, selon le génotype infectant et le niveau de fibrose (données EASL Meeting, 2016).

8. Quelques situations particulières

8.1 Patients en attente de transplantation hépatique

Un traitement par une combinaison d'AAD est le plus souvent recommandé avant la greffe, afin de prévenir le risque de réinfection du greffon. L'obtention rapide d'une RVS peut même dans certains cas améliorer l'état clinique des patients les moins gravement atteints et ainsi d'éviter la nécessité de la transplantation [28]. En revanche, l'intérêt de traiter les patients les plus sévères (score de MELD > 20 et/ou présence d'un carcinome hépatocellulaire) n'est pas démontré [29] et la décision doit se faire en concertation avec l'équipe de transplantation.

8.2. Transplantés hépatiques

Les patients n'ayant pu être traités avant greffe doivent être traités au décours de celle-ci, là encore pour prévenir la réinfection du greffon, ou traiter si celle-ci est déjà présente au moment de la décision thérapeutique [30, 31]. La prise en compte des interactions médicamenteuses, notamment des traitements immunosuppresseurs est évidemment cruciale sur ce terrain.

8.3. Sujets co-infectés VIH-VHC

Toutes les données, qu'elles proviennent des essais thérapeutiques ou de la « vraie vie » indiquent que la réponse aux DAA est identique chez les co-infectés, comparativement aux mono-infectés C [32-35]. Les combinaisons recommandées et les durées de traitement sont donc similaires dans ces deux populations, une attention particulière devant néanmoins être portée aux interactions médicamenteuses entre DAA et antirétroviraux.

8.4. Hépatite C aigüe

L'hépatite C aigüe ne fait pas encore partie des indications remboursables pour les combinaisons d'AAD. Différents schémas thérapeutiques de courte durée (4 à 8 semaines) pourraient pourtant être efficaces dans ce contexte et sont en cours d'évaluation.

9. Les résistances aux AAD

En dépit des taux élevés de RVS, environ 5 % d'échecs sont observés avec les nouveaux AAD. Ces échecs, qui se manifestent le plus souvent par des rechutes

et non par de réels échappements, peuvent être associés à l'émergence de variants viraux qui arborent des mutations de résistance (ou RAVs pour « *Resistance Associated Variants* »)

En raison des erreurs spontanées de la Polymerase virale et de son absence d'activité correctrice, ces variants préexistent à l'introduction du traitement, à l'état de populations minoritaires au sein de la quasi-espèce virale. Deux caractéristiques intrinsèques vont ensuite impacter sur leur émergence au cours d'un traitement et sur leur capacité à induire un échec : le « Fitness » c'est-à-dire la capacité de réplication du virus mutant et le niveau de résistance conféré par le RAV vis-à-vis de la molécule utilisée.

Ces mutations peuvent être recherchées par séquençage de population (ne détectant que les sous-populations représentant au moins 15 % de la quasi-espèce virale) ou par séquençage à haut débit, permettant de détecter des populations bien plus minoritaires [36, 37].

Chez les patients naïfs de tout AAD, la prévalence de ces RAV dépend du gène concerné. Elle est exceptionnelle sur NS5B, rare sur NS3 (hormis le cas particulier du variant Q80K, retrouvé chez 19 % des sujets européens infectés par un génotype 1a) mais serait plus fréquente (jusqu'à 15 %) sur le gène NS5A, en raison du fitness préservé des souches mutantes. Quelques données préliminaires semblent néanmoins indiquer que la présence de ces RAVs avant traitement n'impacte pas sur la réponse thérapeutique, à condition bien sûr de choisir une association thérapeutique adaptée, combinant différentes classes d'AAD.

Il n'est ainsi pas recommandé de réaliser une recherche de mutations de résistance chez les patients n'ayant jamais été exposé aux antiviraux directs.

La situation est bien sûr différente en cas d'échec à un traitement par AAD. Il est dans ce cas recommandé, après avoir écarté une réinfection, de rechercher ces RAVs afin d'optimiser en RCP le choix d'une deuxième ligne thérapeutique. La recherche devra idéalement être réalisée au plus proche de l'instauration de ce retraitement, puisque la persistance des RAVs hors toute pression de sélection est très variable selon les classes thérapeutiques concernées. Les RAVs portant sur les gènes NS5B et NS3 disparaissent ainsi rapidement de l'organisme (en moins de 48 semaines), tandis que celles concernant le gène NS5A persistent bien plus longtemps. De façon logique, la deuxième ligne de traitement devra en général être plus prolongée (24 S) et/ou inclure de la Ribavirine et/ou une nouvelle classe thérapeutique chez les patients concernés.

10. Les enjeux du futur

10.1. Le dépistage et l'accès aux soins

En France, près de 250 000 personnes seraient atteintes d'hépatite C, mais la moitié d'entre elles ignoreraient leur statut [38]. Ce constat, qui se retrouve dans l'ensemble des autres pays développés y compris les USA [39], est encore plus problématique dans les pays en développement. Cette méconnaissance de l'infection résulte à

la fois de son caractère asymptomatique pendant des années et de l'éloignement des structures de soins de certaines populations à risque (toxicomanes et migrants notamment).

Des stratégies d'accès élargis au dépistage se mettent progressivement en place dans de nombreux pays dont la France, faisant notamment appel à l'utilisation de Tests Rapides d'Orientation Diagnostiques (TROD) qui permettent de toucher les populations les plus éloignées des structures de santé [40].

10.2. Les réinfections

En l'absence d'immunité protectrice conférée par l'infection, un sujet guéri peut se réinfecter, surtout s'il continue d'avoir des pratiques à risque. Ce phénomène est surtout préoccupant chez les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) et co-infectés par le VIH, puisqu'une étude européenne récente indique dans cette population un risque de réinfection par le VHC de 7.6 % par an avec 25 % de patients réinfectés à 3 ans [41]. Le diagnostic de réinfection peut être évident (repositivité de la CV VHC à distance de la RVS, pratique à risque, cytololyse associée, nouveau génotype infectant différent de celui présent avant traitement...) ou plus difficile (notamment en cas de réinfection précoce par un même génotype), imposant alors l'analyse phylogénétique des isolats disponibles afin de différencier une rechute d'une réinfection.

10.3 Le coût

Le prix des combinaisons d'AAD reste très élevé (entre 40 000 et 100 000 euros par cure, selon les schémas thérapeutiques choisis) mais l'ensemble des études médico-économiques montrent que le traitement, quel que soit le niveau de fibrose où il est instauré, est coût-efficace [42]. La baisse du coût du traitement par AAD reste un enjeu majeur, notamment dans les pays en développement. Les pistes pour réduire ce coût reposent essentiellement sur les négociations en cours avec les compagnies pharmaceutiques, le développement de médicaments génériques (dont certains sont d'ores et déjà disponibles dans les pays du Sud) et l'utilisation de schémas thérapeutiques raccourcis (8 voire 6 semaines), déjà préconisés ou en cours d'évaluation, chez les sujets avec fibrose modérée ou pour certaines combinaisons de nouvelle génération.

10.4. Les pays en voie de développement

À l'instar d'autres infections virales chroniques telles le VIH ou le VHB, les pays du Sud représentent la part la plus importante, et la plus négligée, de l'épidémie mondiale de l'infection par le virus C [43]. En Afrique, la mortalité groupée due à la cirrhose et au carcinome hépatocellulaire est plus élevée que celle due à la tuberculose ou au paludisme, ce qui place les maladies hépatiques parmi les dix premières causes de mortalité dans ce continent [44]. Hormis le cas particulier de l'Égypte, où la prévalence élevée de l'infection a entraîné une mise en place relativement précoce de programmes de dépistage et de traitement, tous ces pays souffrent d'un défaut de dépistage majeur et d'un accès aux traitements quasi nul.

L'OMS a tardivement pris conscience de l'importance des hépatites virales à l'échelon mondial en publiant en 2010 puis en 2014 un programme global ambitieux [45], ainsi que des recommandations de prise en charge de l'hépatite C [46]. Il faut maintenant traduire ces programmes en une réalité concrète, par la mise en place de projets de recherche opérationnelle, l'infléchissement des politiques nationales en faveur du dépistage et de la prévention, et un plaidoyer efficace pour un accès élargi et à bas prix aux AAD. Le chemin paraît long et difficile, mais les succès acquis dans les mêmes pays du Sud vis-à-vis de l'épidémie VIH devraient être une aide précieuse et stimulante pour répondre à ces objectifs.

11. Conclusion

Au cours de la dernière décennie, la prise en charge thérapeutique de l'hépatite C a connu des avancées majeures. Différentes combinaisons d'anti-viraux directs permettent aujourd'hui d'obtenir une guérison chez la quasi-totalité des sujets traités, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité hépatique chez ces patients. En l'absence de vaccin, des obstacles importants restent néanmoins à surmonter avant d'envisager l'éradication du virus à l'échelon mondial.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/fr/>
- [2] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2095-2128
- [3] Dhumeaux D. Prise en charge des personnes infectées par les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C. 2014. <http://bit.ly/1HZvjzJ>.
- [4] Sulkowski MS, Vargas HE, Di Bisceglie AM, et al. Effectiveness of Simeprevir Plus Sofosbuvir, With or Without Ribavirin, in Real-World Patients With HCV Genotype 1 Infection. *Gastroenterology* 2015.
- [5] Aql BA, Pungpapong S, Leise M, et al. Multicenter experience using simeprevir and sofosbuvir with or without ribavirin to treat hepatitis C genotype 1 in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2015;62:1004-1012.
- [6] Poordad F, Hezode C, Trinh R, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *N Engl J Med* 2014;370:1973-1982.
- [7] Feld JJ, Moreno C, Trinh R, Tam E, et al. Sustained virologic response of 100 % in HCV genotype 1b patients with cirrhosis receiving ombitasvir/paritaprevir/r and dasabuvir for 12 weeks. *J Hepatol* 2015.
- [8] Hezode C, Asselah T, Reddy KR, et al. Ombitasvir plus paritaprevir plus ritonavir with or without ribavirin in treatment-naïve and treatment-experienced patients with genotype 4 chronic hepatitis C virus infection (PEARL-I): a randomised, open-label trial. *Lancet* 2015.
- [9] Zeuzem S, Ghalib R, Reddy KR, et al. Grazoprevir-Elbasvir Combination Therapy for Treatment-Naïve Cirrhotic and Noncirrhotic Patients With Chronic HCV Genotype 1, 4, or 6 Infection: A Randomized Trial. *Ann Intern Med* 2015.
- [10] Forns X, Gordon SC, Zuckerman E, et al. Grazoprevir/Elbasvir plus Ribavirin For Chronic HCV Genotype-1 Infection After Failure of Combination Therapy Containing a Direct-Acting Antiviral Agent. *J Hepatol* 2015.
- [11] Roth D, Nelson DR, Bruchfeld A, Liapakis A, et al. Grazoprevir plus elbasvir in treatment-naïve and treatment-experienced patients with hepatitis C virus genotype 1 infection and stage 4-5 chronic kidney disease (the C-SURFER study): a combination phase 3 study. *Lancet* 2015 Oct 17;386:1537-45.
- [12] Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014;370:1889-1898.
- [13] Kowdley KV, Gordon SC, Reddy KR, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for 8 or 12 weeks for chronic HCV without cirrhosis. *N Engl J Med* 2014;370:1879-1888.
- [14] Reddy KR, Bourliere M, Sulkowski M, et al. Ledipasvir and Sofosbuvir in Patients with Genotype 1 HCV and Compensated Cirrhosis: An Integrated Safety and Efficacy Analysis. *Hepatology* 2015;62:79-86.
- [15] Mizokami M, Yokosuka O, Takehara T, et al. Ledipasvir and sofosbuvir fixed-dose combination with and without ribavirin for 12 weeks in treatment-naïve and previously treated Japanese patients with genotype 1 hepatitis C: an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015;15:645-653. 139
- [16] Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2014;370:211-221.
- [17] Sulkowski MS, Jacobson IM, Nelson DR. Daclatasvir plus sofosbuvir for HCV infection. *N Engl J Med* 2014;370:1560-1561.
- [18] Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase III study. *Hepatology* 2015;61:1127-1135
- [19] Hézode C, Bronowicki JP. Ideal oral combinations to eradicate HCV: The role of ribavirin. *J Hepatol*. 2016 Jan;64(1):215-25
- [20] Pawlotsky JM, Flisiak R, Sarin SK, et al. VITAL-1 study team. Alisporivir plus ribavirin, interferon free or in combination with pegylated interferon, for hepatitis C virus genotype 2 or 3 infection. *Hepatology*. 2015 Oct;62(4):1013-23
- [21] Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med*. 2013 May 2;368(18):1685-94.
- [22] Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology* 2015; 61:41-45.
- [23] van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA* 2012;308:2584-2593.
- [24] Morgan RL, Baack B, Smith BD, et al. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Ann Intern Med* 2013;158:329-337.
- [25] Sanmartin R, Tor J, Sanvisens A, Lopez JJ, et al. Progression of liver fibrosis in HIV/hepatitis C virus-coinfected individuals on antiretroviral therapy with early stages of liver fibrosis at baseline. *HIV Med* 2014;15:203-212.
- [26] Feld JJ, Jacobson IM, Hezode C, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. *N Engl J Med* 2015;373:2599-2607.
- [27] Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *N Engl J Med* 2015;373:2618-2628.
- [28] Ruiz I, Feray C, Pawlotsky JM, et al. Patient with decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis delisted for liver transplantation after successful sofosbuvir-based treatment. *Liver Transpl* 2015;21:408-409.
- [29] Coilly A, Pageaux G, Houssel-Debry P, et al. Improving liver function and delisting of patients awaiting liver transplantation for HCV cirrhosis: Do we ask too much to DAA? *Hepatology* 2015;62 (Suppl 1):257A.
- [30] Pungpapong S, Aql B, Leise M, et al. Multicenter experience using Sofosbuvir and simeprevir with/without ribavirin to treat HCV genotype 1 after liver transplant. *Hepatology* 2015;61:1880-1886.
- [31] Forns X, Charlton M, Denning J, et al. Sofosbuvir compassionate use program for patients with severe recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology* 2014.

- [32] Rockstroh JK, Nelson M, Katlama C, et al. Efficacy and safety of grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) in patients with hepatitis C virus and HIV co-infection (C-EDGE CO-INFECTION): a non-randomised, open-label trial. *Lancet HIV* 2015;2:e319-327.
- [33] Naggie S, Cooper C, Saag M, et al. Ledipasvir and Sofosbuvir for HCV in Patients Coinfected with HIV-1. *N Engl J Med* 2015;373:705-713.
- [34] Sulkowski MS, Eron JJ, Wyles D, et al. Ombitasvir, paritaprevir co-dosed with ritonavir, dasabuvir, and ribavirin for hepatitis C in patients co-infected with HIV-1: a randomized trial. *JAMA* 2015;313:1223-1231.
- [35] Mandorfer M, Schwabl P, Steiner S, et al. Interferon-free treatment with sofosbuvir/daclatasvir achieves sustained virologic response in 100 % of HIV/HCV-coinfected patients with advanced liver disease. *AIDS* 2016.
- [36] Sarrazin C. The importance of resistance to direct antiviral drugs in HCV infection in clinical practice. *J Hepatol* 2015.
- [37] Fourati S, Pawlotsky JM. Virologic Tools for HCV Drug Resistance Testing. *Viruses*. 2015 Dec 4;7(12):6346-59.
- [38] Institut de veille sanitaire. Connaissances, perceptions et attitudes vis-à-vis des hépatites virales B et C en France. Numéro thématique. *BEH* 2012 (29-30).
- [39] Holmberg SD, Spradling PR, Moorman AC, et al. Hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 2013; 368:1859-1861.
- [40] HAS: Place des TROD dans la stratégie de dépistage du VHC. Rapport de mai 2014.
- [41] Martin TC et al., abstract PS006, EASL Meeting, Barcelone 2016
- [42] Younossi Z, Henry L. The impact of the new antiviral regimens on patient reported outcomes and health economics of patients with chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis*. 2014 Dec 15;46 Suppl 5: S186-96.
- [43] Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014 Nov;61(1 Suppl):S45-57. doi: 10.1016/j.jhep.2014.07.027. Epub 2014 Jul 30.
- [44] Lemoine M, Eholié S, Lacombe K. Reducing the neglected burden of viral hepatitis in Africa: strategies for a global approach. *J Hepatol*. 2015 Feb;62(2):469-76.
- [45] World Health Organization. Global Hepatitis Programm, Global Partners. 2014
- [46] World Health Organization. Guidelines for screening, care and treatment of persons infected with hepatitis C. 2014.

QCM Évaluez-vous !

*Ceci est un questionnaire à choix multiples.
Par conséquent, il est possible que certaines questions
puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.
Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.*

1 Laquelle ou lesquelles de ces affirmations concernant les coronavirus humains est ou sont correcte(s) :

- ☐ A. Les HCoV ont un tropisme principalement respiratoire
- ☐ B. Les HCoV ont un tropisme neurologique avéré
- ☐ C. Le SARS-CoV et le MERS-CoV ont un tropisme essentiellement entérique
- ☐ D. Les coronavirus infectent uniquement les mammifères
- ☐ E. Tous les coronavirus humains appartiennent au genre *Betacoronavirus*

2 Laquelle ou lesquelles de ces affirmations est ou sont correctes :

- ☐ A. Les coronavirus sont des virus nus
- ☐ B. Le génome de coronavirus est un ARN de polarité positive non segmenté
- ☐ C. Tous les HCoV contiennent une hémagglutinine estérase intégrée dans leur membrane
- ☐ D. Les projections à la surface du virion sont constituées par la protéine M
- ☐ E. Le complexe de réplication est constitué par 16 protéines non structurales

3 Concernant le SARS-CoV, quelle(s) affirmation(s) est ou sont correctes :

- ☐ A. Le SARS-CoV peut être détecté dans les selles
- ☐ B. Le SARS-CoV a émergé en 2012 au Moyen-Orient
- ☐ C. Le SARS-CoV peut être associé à des gastro-entérites communautaires
- ☐ D. Le SARS-CoV est associé à un taux de mortalité global de 50 %
- ☐ E. Le SARS-CoV a le dromadaire pour réservoir animal

4 Concernant le MERS-CoV, quelle(s) affirmation(s) est ou sont correctes :

- ☐ A. Le MERS-CoV circule en France de manière épidémique
- ☐ B. Le MERS-CoV peut être associé à une défaillance rénale
- ☐ C. Une épidémie de MERS-CoV a eu lieu en Corée du Sud
- ☐ D. Le MERS-CoV est facilement détecté dans les prélèvements respiratoires hauts
- ☐ E. Tous les cas de MERS-CoV sont épidémiologiquement liés à la corne d'Afrique

5 Concernant le diagnostic des infections à coronavirus, laquelle ou lesquelles de ces affirmations sont correctes :

- ☐ A. La détection moléculaire des HCoV est basée sur le gène S

- ☐ B. Le MERS-CoV fait partie des micro-organismes et toxines hautement pathogènes
- ☐ C. Le diagnostic repose exclusivement sur des outils sérologiques
- ☐ D. Les HCoV « classiques et nouveaux » appartiennent au panel des pathogènes respiratoires recherchés en routine lors d'une infection respiratoire
- ☐ E. Les HCoV « classiques et nouveaux » sont détectés à partir de prélèvements respiratoires

6 Le diagnostic au laboratoire de la dengue, 3 jours après le début des signes cliniques repose sur :

- ☐ A. La détection de l'ARN viral dans le sang
- ☐ B. La détection de l'ARN viral dans les urines
- ☐ C. La détection des IgM spécifiques
- ☐ D. La détection des IgM et des IgG spécifiques
- ☐ E. La détection de l'ARN viral et des IgM spécifiques

7 Les complications neurologiques des infections à virus West Nile chez l'Homme, représentent environ :

- ☐ A. 0,05 % des cas
- ☐ B. 0,2 % des cas
- ☐ C. 1 % des cas
- ☐ D. 5 % des cas
- ☐ E. 15 % des cas

8 Parmi les propositions suivantes concernant la mesure de la charge virale des herpèsvirus humains, laquelle (lesquelles) est (sont) juste(s) ?

- ☐ A. la technique la plus utilisée actuellement est la quantification des antigènes viraux
- ☐ B. la cible moléculaire de la quantification par PCR est l'ARN viral
- ☐ C. une indication privilégiée est la mesure de la charge virale du virus herpès simplex (HSV) dans le liquide cébrospinal
- ☐ D. cette mesure est couramment effectuée dans le sang circulant pour le suivi des infections à cytomégalovirus (CMV) des sujets immunodéprimés
- ☐ E. la mesure par PCR concerne uniquement les particules virales libres dans les liquides biologiques

9 Parmi les propositions suivantes concernant la mesure de la charge virale du cytomégalovirus (CMV), indiquer celle(s) qui est (sont) juste(s).

- ☐ A. elle peut s'effectuer sur le plasma
- ☐ B. elle peut s'effectuer sur le sang total

- ☐ C. le rendu des résultats nécessite deux semaines d'attente après la réception des échantillons
- ☐ D. un étalon international est disponible pour la quantification de l'ADN viral
- ☐ E. elle n'est pas nécessaire pour l'institution d'un traitement antiviral anticipé dit «préemptif»

10 Chez un patient transplanté d'organe solide suspect de présenter une lymphoprolifération induite par le virus d'Epstein-Barr (EBV), indiquer la (les) proposition(s) juste(s) concernant la mesure de la charge virale de ce virus.

- ☐ A. elle est effectuée sur l'ADN extrait d'une biopsie ganglionnaire
- ☐ B. une valeur élevée peut conduire à prescrire un traitement par le ganciclovir
- ☐ C. une valeur élevée peut conduire à prescrire un traitement par le rituximab
- ☐ D. la valeur consensuelle pour l'indication d'un traitement a été fixée à 1 000 UI/mL de sang
- ☐ E. la mesure de la charge virale dans le liquide cébrospinal est indispensable

11 Un patient de 64 ans, ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules hématopoïétiques pour le traitement d'un lymphome deux mois auparavant, présente une ADNémie d'herpèsvirus humain 6 (HHV-6) de 1 million de copies/mL de sang total. Indiquer la (les) proposition(s) juste(s) parmi les suivantes.

- ☐ A. ce résultat peut correspondre à une intégration chromosomique du HHV-6
- ☐ B. ce résultat peut correspondre à une réactivation du HHV-6 du fait de l'immunodépression
- ☐ C. ce résultat doit être confirmé par une mesure de la charge virale dans le plasma
- ☐ D. le HHV-6 en cause peut être du HHV-6A, du HHV-6B, ou un mélange des deux
- ☐ E. en l'absence de signes cliniques d'infection, ce résultat est à considérer comme erroné

12 Parmi les propositions suivantes concernant la mesure de la charge virale de l'herpès humain 8 (HHV-8), laquelle (lesquelles) est (sont) juste(s)?

- ☐ A. elle est indispensable pour porter le diagnostic d'infection à HHV-8
- ☐ B. elle est indispensable pour porter le diagnostic de maladie de Kaposi
- ☐ C. elle diminue en moyenne dans le sang circulant au cours d'un traitement efficace de la maladie de Castleman multicentrique associée au HHV-8
- ☐ D. elle diminue en moyenne dans le sang circulant au cours d'un traitement antirétroviral lors d'une maladie de Kaposi associée à l'infection à VIH
- ☐ E. elle est constamment mesurable chez un sujet séropositif pour le HHV-8

13 Parmi les propositions suivantes concernant le ganciclovir, laquelle (lesquelles) est (sont) juste(s)?

- ☐ A. c'est un inhibiteur de l'ADN polymérase du cytomégalo virus (CMV)
- ☐ B. c'est un analogue nucléosidique de la cytidine
- ☐ C. il est majoritairement primophosphorylé par une kinase cellulaire
- ☐ D. certaines mutations dans la phosphotransférase du CMV peuvent induire une résistance au ganciclovir
- ☐ E. il existe une prodrogue orale du ganciclovir

14 Parmi les propositions suivantes concernant le foscarnet, laquelle (lesquelles) est (sont) juste(s)?

- ☐ A. c'est un analogue nucléosidique du ganciclovir
- ☐ B. c'est un analogue de pyrophosphate
- ☐ C. c'est un inhibiteur des ADN polymérases des virus herpes simplex (HSV), du virus varicelle-zona (VZV) et du cytomégalo virus (CMV)
- ☐ D. sa toxicité est essentiellement hématologique
- ☐ E. il existe une prodrogue orale du foscarnet

15 Parmi les propositions suivantes concernant les nouveaux anti-herpétiques évalués en essai clinique, laquelle (lesquelles) est (sont) juste(s)?

- ☐ A. l'aménamévir est un inhibiteur du complexe l'hélicase-primase des virus herpes simplex (HSV)
- ☐ B. le maribavir inhibe spécifiquement la phosphotransférase du CMV
- ☐ C. le létermovir inhibe les étapes précoces du cycle réplcatif du cytomégalo virus (CMV)
- ☐ D. il existe une prodrogue orale du cidofovir
- ☐ E. l'artésunate est évalué pour le traitement du zona

16 La polymérase virale qui assure la réplication du virus de l'hépatite C est:

- ☐ A. La protéine NS2
- ☐ B. La protéine NS3/4A
- ☐ C. La protéine NS4B
- ☐ D. La protéine NS5A
- ☐ E. La protéine NS5B

17 Parmi les molécules suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) un (des) antiviral(aux) à action directe sur le VHC?

- ☐ A. Ganciclovir
- ☐ B. Sofosbuvir
- ☐ C. Dasabuvir
- ☐ D. Darunavir
- ☐ E. Ribavirine

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 83

Hépatite à cytomégalo virus chez un nourrisson immunocompétent

Mesbahi Zineb^a, Seffar Myriam^a, Assani Karim^b, Dahraoui Souhail^a, Kabbaj Hakima^a

1. Introduction

Le cytomégalo virus (CMV) est un virus à ADN double brin de la famille des *Herpesviridae*. La séroprévalence du CMV de par le monde est de 60 à 100 % chez l'Homme [1]. Ce virus se caractérise par une latence à vie après la primo-infection avec possibilité de réactivations et peut causer de nombreuses atteintes sévères chez le patient immunodéprimé comme des pneumopathies, des méningo-encéphalites, des rétinites, des colites et des hépatites [2]. L'infection à CMV chez l'immunocompétent est habituellement asymptomatique et l'atteinte sévère d'organe est rarement rapportée [3,4]. Le diagnostic virologique de l'infection à CMV est basé essentiellement sur la quantification de l'ADN plasmatique du CMV, à défaut sur la mise en évidence et la quantification de l'Ag pp65 leucocytaire. Les IgM anti-CMV sont le plus souvent positives [5]. Nous rapportons le cas d'un nourrisson immunocompétent présentant une hépatite à CMV avec cholestase et cytolysse.

2. Observations

Il s'agit d'un nourrisson âgé de 18 mois qui s'est présenté au service de pédiatrie pour un ictère évoluant depuis 2 semaines. Le patient avait des antécédents de malformations cardiaques (communication inter-ventriculaire) et cérébrale (myéloméningocèle). Le myéloméningocèle a causé une hydrocéphalie qui a conduit à faire une dérivation péritonéale.

Le nourrisson ne présentait pas de symptomatologie respiratoire et sa radiologie pulmonaire était normale.

a Laboratoire Central de Virologie,
Université Mohamed V,
Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat,
centre hospitalier Ibn Sina,
Hôpital des Spécialités,
Rabat, Maroc.

b Service de Pédiatrie 3,
Université Mohamed V,
Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat,
centre hospitalier Ibn Sina,
Rabat, Maroc.

Correspondance
mesbahizineb@gmail.com

Devant cette symptomatologie, un bilan biologique a été réalisé et a objectivé une élévation de l'alanine aminotransférase (ALAT) à 533 UI/L, de l'aspartate aminotransférase (ASAT) à 399 UI/L, de la phosphatase alcaline à 3327 UI/L et de la gamma glutamyl transférase (Gamma GT) à 1042 UI/L. Le taux de bilirubine totale était augmenté à 124 mg/L avec une bilirubine directe à 92 mg/L. Le taux de cholestérol était à 6,96 g/L. La glycémie était à 0,59 g/L et le taux de prothrombine à 63 %.

La numération formule sanguine a montré une anémie à 9,9 g/dL, normochrome normocytaire avec une leucocytose à prédominance lymphocytaire et une monocytose à $1,73 \times 10^3/\mu\text{L}$. Le taux des plaquettes était à $628 \times 10^3/\mu\text{L}$.

Dans le cadre du bilan étiologique d'une hépatite virale avec cytolysse et cholestase, les sérologies des hépatites virales A, B et C ont été réalisées en première intention. Elles étaient négatives pour les Ac anti-hépatite virale A de type IgM et IgG, pour les Ac anti-hépatite virale C ainsi que pour l'Ag HBs, l'Ac anti-HBs et l'Ac anti-HBc.

La recherche de l'ARN de l'hépatite virale E dans le sérum du patient par PCR en temps réel (RealStar HEV RT-PCR, Altona) était aussi négative.

Les Ig M et les Ig G anti-CMV étaient positifs.

La charge virale de l'ADN du CMV par PCR en temps réel (Abbott Real Time CMV) sur le plasma du patient était positive à 4456 UI/mL correspondant à 3.65 log UI/mL.

Les Ac anti-Epstein Barr virus de type VCA IgM, VCA IgG et EBNA IgG étaient négatifs.

Par ailleurs, la sérologie du virus de l'immunodéficience humaine VIH 1 et 2 était négative. L'ensemble des sérologies virales a été effectué par dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence sur l'automate Architect/Abbott.

Sur l'ensemble de ces données clinico-biologiques, le diagnostic d'hépatite à CMV a été retenu.

L'évolution de l'hépatite était favorable sans traitement antiviral avec une baisse des transaminases à 68 UI/L pour les ALAT et 35 UI/L pour les ASAT.

3. Discussion

Nous rapportons un cas d'hépatite à CMV chez un nourrisson immunocompétent, tout en présentant son profil biochimique, ses marqueurs sérologiques et son évolution sans traitement antiviral.

Les primo-infections à CMV chez un hôte immunocompétent sont habituellement asymptomatiques, ou dans certains cas, se présentent sous la forme d'un syndrome mononucléotique. L'atteinte sévère d'organe imputée à une infection à CMV chez le patient immunocompétent est rare [6,7].

Après la primo-infection, le virus persiste à l'état latent dans les cellules de l'endothélium des vaisseaux, dans les cellules souches de la moelle osseuse et dans les monocytes du sang périphérique. Des infections secondaires et son implication dans de nombreux mécanismes cellulaires en font cependant un redoutable pathogène opportuniste chez les patients immunodéficients.

Chez l'immunocompétent, les manifestations cliniques telles que le syndrome mononucléotique, associé à une fièvre prolongée, des céphalées, des myalgies, apparaissant après une incubation longue (30 jours), sont observées essentiellement au cours des primo-infections. Les formes graves nécessitant un traitement sont exceptionnelles [8].

Une méta-analyse menée en 2008 a regroupé 89 articles rapportant 290 cas d'infections à CMV chez des patients immunocompétents. Parmi ces patients, l'atteinte la plus fréquente concernait le tractus gastro-intestinal (colites) et le système nerveux central. Les manifestations cliniques d'autres organes concernaient les atteintes hématologiques (anémie hémolytique, thrombocytopenie), oculaires (uvéite) et pulmonaires (pneumonie).

Seulement 5.17 % des patients ont présenté une atteinte hépatique due à l'infection par le CMV [1].

Notre patient présentait une forte charge virale du CMV et une sérologie positive en IgM anti-CMV.

L'hépatite à CMV a été considérée comme la cause la plus probable dans ce cas. La biopsie hépatique n'a pas été faite car les autres causes d'atteinte hépatique comme l'atteinte éthylique, médicamenteuse, toxique, tumorale ainsi que toutes les autres causes virales d'hépatite ont été écartées.

La mise en évidence de l'importance clinique que représente le CMV dans certaines maladies invasives, surtout chez le sujet immunodéprimé, a conduit au développement de techniques de diagnostic pour une identification rapide de cette infection. Les techniques du diagnostic direct reposent sur la recherche du virus par culture, de l'antigène pp65 et de l'ADN CMV par des techniques d'amplification génique (*polymerase chain reaction* ou PCR) qualitatives ou quantitatives [8].

La technique par immuno-histochimie sur des tissus est très spécifique mais a une faible sensibilité et se base

sur une lecture subjective. L'antigène pp65 était largement utilisé pour le diagnostic et le suivi thérapeutique. Il repose sur la quantification du nombre de leucocytes positifs par immunofluorescence dans le sang périphérique. Actuellement, la détection avec quantification de l'ADN du CMV plasmatique est largement utilisée pour le diagnostic et le suivi des infections à CMV. Elle reste une technique rapide, sensible, de plus en plus accessible et qui permet de quantifier la charge virale. Les tests sérologiques sont utiles pour déterminer si le patient a eu un contact antérieur avec le CMV, en recherchant les Ac anti-CMV de type IgG par des techniques ELISA. La détection des IgM est un indicateur d'une infection aiguë ou récente. Cependant, les tests de détection des IgM manquent de spécificité dans le cas de primo-infections. Leur détection peut être due à une réactivation du CMV ou à des faux positifs [10].

Depuis la commercialisation du ganciclovir, du foscarnet et du cidofovir, le développement de nouvelles molécules a été freiné par la chute de l'incidence de la maladie à CMV chez les patients infectés par le VIH, et l'arsenal thérapeutique anti-CMV reste limité aux inhibiteurs de l'ADN polymérase virale, sans effet sur les virus latents [8]. À la lumière de ces résultats, certaines limites apparaissent, notamment le manque de spécificité des IgM lors d'une primo-infection. Un test d'avidité aurait pu différencier une primo-infection récente d'un contact ancien avec le CMV. De plus, les tests sérologiques et/ou virologiques sur des échantillons antérieurs de l'enfant n'étaient pas disponibles pour éliminer une éventuelle infection congénitale au CMV.

4. Conclusion

Ce cas est un exemple de survenue d'une hépatite due à l'infection par le CMV. Cela suggère que malgré le fait que cette étiologie soit rare, elle devrait figurer dans la liste des explorations dans le cadre du diagnostic étiologique d'une hépatite, et cela même chez les sujets immunocompétents.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Rafailidis PI, Mourtoukou EG, Varbobitis IC, et al. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology Journal* 2008; 5:47.
- [2] Hasosah MY, Kutbi SY, Al-Amri AW, et al. Perinatal Cytomegalovirus Hepatitis in Saudi Infants: A Case Series. *Saudi J Gastroenterol.* 2012 May-Jun; 18(3):208-13.
- [3] Gupta P, Suryadevara M, Das A. Cytomegalovirus-Induced Hepatitis in an Immunocompetent Patient. *Am J Case Rep*, 2014; 15: 447-449.
- [4] Ma Y, Feng J, Qi Y, et al. An immunocompetent adult patient with hepatitis and guillain-barré syndrome after cytomegalovirus infection. *Virology Journal* 2011; 8:95.
- [5] Zubiaurre L, Zapata E, Bujanda L, et al. Cytomegalovirus hepatitis and myopericarditis. *World J Gastroenterol* 2007 January 28; 13(4): 647-648.
- [6] Qian JY, Bai XY, Feng YL, et al. Cholestasis, ascites and pancytopenia in an immunocompetent adult with severe cytomegalovirus hepatitis. *World J Gastroenterol* 2015 November 21; 21(43): 12505-12509.
- [7] Ben Abdelghani K, Hajri S, Barbouch S, et al. Uvéite, néphrite interstitielle et hépatite à cytomegalovirus chez un adulte immunocompétent. *La Tunisie Médicale* - 2012 ; 90: 86 - 87.
- [8] Alain S., Mazon M. C. Le cytomegalovirus. *Traité de virologie médicale*. eds Estem, 2003 : chapitre 12, 195-211.
- [9] Blok MJ, Christiaans MH, Goossens VJ, et al. Evaluation of a new method for early detection of active cytomegalovirus infections. A study in kidney transplant recipients. *Transpl. Int.* 1998; 11(Suppl 1): S107-S109.
- [10] Ross SA, Novak Z, Pati S, et al. Diagnosis of Cytomegalovirus Infections, *Infect Disord Drug Targets*. 2011 October; 11(5): 466-474.

La toxoplasmose cérébrale chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine au Maroc

Taoufik Lahoucine^{a,*}, Malika Idalene^a, Fatima Ihibbane^a, Noura Tassi^a

RÉSUMÉ

La toxoplasmose cérébrale est la principale infection opportuniste du système nerveux central lors de l'infection par le VIH. Le but de cette étude est d'étudier les caractéristiques générales de la toxoplasmose cérébrale au cours de l'infection à VIH au sein du CHU Mohamed VI de Marrakech. Il s'agit d'une étude rétrospective de 7 ans (de janvier 2007 à janvier 2014), menée dans le service des maladies infectieuses du CHU Mohamed VI de Marrakech. Elle a concerné tous les patients infectés par le VIH, ayant une toxoplasmose cérébrale probable ou confirmée. Vingt-un patients sur 453 suivis pour une infection à VIH ont rempli les critères du diagnostic, soit une prévalence de 4,63 %. L'âge moyen était de 38 ans. Les manifestations cliniques étaient caractérisées par des signes de déficit neurologique (80 %), d'hypertension intracrânienne (42 %), de crises convulsives (38 %). Les images tomodensitométriques retrouvées étaient des hypodensités avec rehaussement périphérique en cocarde dans 33 % des cas. Le taux moyen des lymphocytes T CD4 était de 55,78 cellules/mm³. Le cotrimoxazole a été utilisé chez 95 % des patients. Une amélioration clinique a été obtenue dans 66 % des cas. Le dépistage précoce et la prévention primaire chez les patients ayant un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 200 cellules/mm³, restent indispensables pour améliorer le pronostic et la survie de ces patients.

Toxoplasmose cérébrale - VIH/SIDA.

1. Introduction

La toxoplasmose est l'une des affections parasitaires la plus fréquente, due à *Toxoplasma gondii*. Elle est généralement bénigne chez l'immunocompétent mais redoutable chez la femme enceinte et surtout chez le sujet immunodéprimé par ses complications cérébrales [1]. Il s'agit souvent d'une réactivation endogène d'une infection ancienne secondaire à une immunodépression [2]. En particulier l'infection par le virus d'immunodéficience humaine au cours de laquelle

^a Service des Maladies Infectieuses
CHU Mohammed VI
Marrakech - Maroc

Correspondance
taoufiklahoucine@gmail.com

article reçu le 30 août 2016, accepté le 30 septembre 2016.
© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Cerebral toxoplasmosis in patients infected with Human immunodeficiency virus in Morocco

Cerebral toxoplasmosis is common opportunistic infections of central nervous system in AIDS. The aim of this study is to investigate the general characteristics of cerebral toxoplasmosis during HIV infection and AIDS in Mohamed VI teaching hospital of Marrakech. It is a retrospective study of 7 years (from January 2007 to January 2014), conducted in the infectious diseases department of Mohamed VI Teaching Hospital of Marrakech. It concerned all patients infected with HIV, with cerebral toxoplasmosis probable or confirmed. A total of 453 patients investigated, 21 met cerebral toxoplasmosis diagnostic criteria. The rate of cerebral toxoplasmosis in the study population was 4,63 %. The average age was 38 years. Focused neurological deficit (80 %), intracranial hypertension signs (42 %), seizures (38 %) were the clinical characteristics. Hypodensity with peripheral enhancement images was found on CT in 33 % of cases. The average rate of CD4 T cells was 55.78 cells/mm³. Cotrimoxazole was used in 95 % of patients. Antitoxoplasmic treatment led to a clinical improvement in 66 %. Early diagnosis and primary prevention in patients with a CD4 count below 200 cells/mm³, remains essential to improve the prognosis and survival of these patients.

Cerebral toxoplasmosis - HIV/ AIDS.

elle constitue la plus fréquente des infections opportunistes du système nerveux central [1,2]. La fréquence de cette infection opportuniste au cours de l'infection à VIH semble variable entre les pays occidentaux et l'Afrique. Cette étude a été menée dans le but de décrire les aspects cliniques, thérapeutiques, évolutifs et prophylactique de la toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA en milieu hospitalier d'après l'expérience du service des Maladies Infectieuses du centre hospitalo-universitaire Mohamed VI de Marrakech.

2. Patients et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective couvrant une période de 7 ans (de janvier 2007 à janvier 2014), menée dans le service des Maladies Infectieuses du CHU Mohamed VI de Marrakech. On a inclus tous les patients infectés par le VIH

et ayant eu une toxoplasmose cérébrale. Le diagnostic de la toxoplasmose cérébrale a été retenu devant l'association d'une symptomatologie clinique évocatrice (syndrome infectieux, syndrome d'hypertension intracrânienne et de signes de déficit neurologique), des signes scanographiques évocateurs, d'une sérologie (IgG) toxoplasmique positive (dosage par technique immunoenzymatique) et d'une évolution favorable sous traitement antitoxoplasmique. Les données démographiques, cliniques, paracliniques, thérapeutiques ont été recueillies pour chaque patient sur une fiche standardisée. Le traitement des données a été fait sur le logiciel SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).

3. Résultats

Durant la période d'étude, 453 patients infectés par le VIH ont été suivis dans le service. Le diagnostic de la toxoplasmose cérébrale a été retenu chez 21 patients (14 hommes et 7 femmes) soit un sexe ratio H/F = 2. La prévalence de la toxoplasmose cérébrale était de 4.63 %. L'âge moyen était de 38 ans avec des extrêmes 28 et 50 ans. Dans notre étude la toxoplasmose a été révélatrice de l'infection à VIH dans 57 % des cas, et survenant dans un tableau aigu chez 12 patients. Les signes cliniques étaient constitués par des associations variables de signes de déficit neurologique focalisé dans 80 % des cas dominés par l'hémiplégie dans 33 % des cas, de syndrome d'hypertension intracrânienne dans 42 % des cas, de crises convulsives dans 38 % des cas, des troubles de la conscience (obnubilation, coma) dans 38 % des cas, de syndrome infectieux dans 28 % des cas, de troubles psychiatriques dans 9 % des cas et de syndrome méningé dans 4,7 % des cas. D'autres infections opportunistes étaient associées tel que la candidose œsophagienne (45 %), la tuberculose pulmonaire (28 %) et la pneumocystose pulmonaire (27 %). Aucune localisations extra-neurologiques de la toxoplasmose n'ont été retrouvées, la recherche d'une localisation oculaire du toxoplasme est revenue négative chez les patients ayant bénéficié d'un fond d'œil (FO). La numération formule sanguine réalisée chez tous les patients a montré une lymphopénie chez 80,9 % des patients, une anémie chez 47,6 % et une leucopénie chez 42,8 % des patients. La CRP a été dosée chez 17 patients (80,95 %), elle était élevée chez 12 patients avec un taux moyen de 50 mg/l. Le dosage du lactate déshydrogénase (LDH) fait chez 15 patients est revenu élevé dans 5 cas (33,33 %). La sérologie toxoplasmique réalisée dans le sérum chez 15 patients est revenue positive dans tous les cas à IgG seuls avec un taux moyen de 378 UI/ml. La numération du taux des lymphocytes T CD4 a été réalisée chez tous les patients sauf un. Le taux moyen était de 55,78 cellules/mm³ et 85 % de ces patients avaient un taux de CD4 inférieur à 100 cellules/mm³ (**tableaux I et II**). Le scanner cérébral a été réalisé chez 19 patients et l'aspect des images retrouvées était essentiellement des images en cocarde (**figure 1**) ou des hypodensités avec rehaussements périphériques dans 66 % des cas suivis d'hypodensités sans rehaussement et des abcès (**tableau III**). L'imagerie par résonance magnétique a été

Tableau I - Résultats du taux de CD4 dans cette série.

Taux de lymphocytes TCD4	Nombre de patients (n = 20)	Pourcentage (%)
< 100 cellules/mm ³	17	85
100-200 cellules/mm ³	2	10
> 200 cellules/mm ³	1	5

Tableau II - Résultats du taux de CD4 comparé à la charge virale dans cette série.

	taux de CD4 au moment du diagnostic de la toxoplasmose (cellules/mm ³)	La charge virale CV (copies/ml)
1	5	-*
2	32	430080
3	131	343678
4	86	-**
5	4	90756
6	16	376450
7	8	-*
8	63	-*
9	76	-**
10	2	-**
11	51	-***
12	137	-**
13	26	15724
14	218	< 50
15	22	-**
16	-*	-**
17	61	-**
18	20	-**
19	73	-**
20	29	31416
21	36	-**

CV non disponible

** Patient décédé

*** patient transféré à un autre centre hospitalier

Tableau III - Les différents aspects tomodensitométriques observés chez les malades.

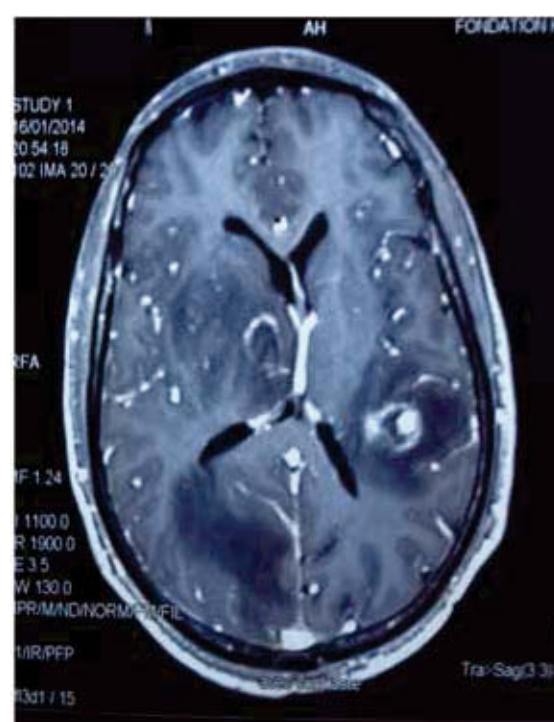
Aspect tomodensitométriques	Nombre de patients (N = 19)	Pourcentage (%)
Image en cocarde	7	33
Hypodensité prenant le contraste	7	33
Hypodensité ne prenant pas le contraste	3	14
Image d'abcès	3	14

Figure 1.



Coupe horizontale d'une TDM cérébrale avec injection : lésion sous corticale occipitale gauche avec rehaussement périphérique en cocarde mesurant 15 mm.

Figure 2.



IRM cérébrale Séquence T1 avec injection (coupe axiale): plusieurs lésions sous corticales bilatérales en hyposignal avec prise de Gadolinium en cocarde, et un important effet de masse et début d'engagement sous factoriel.

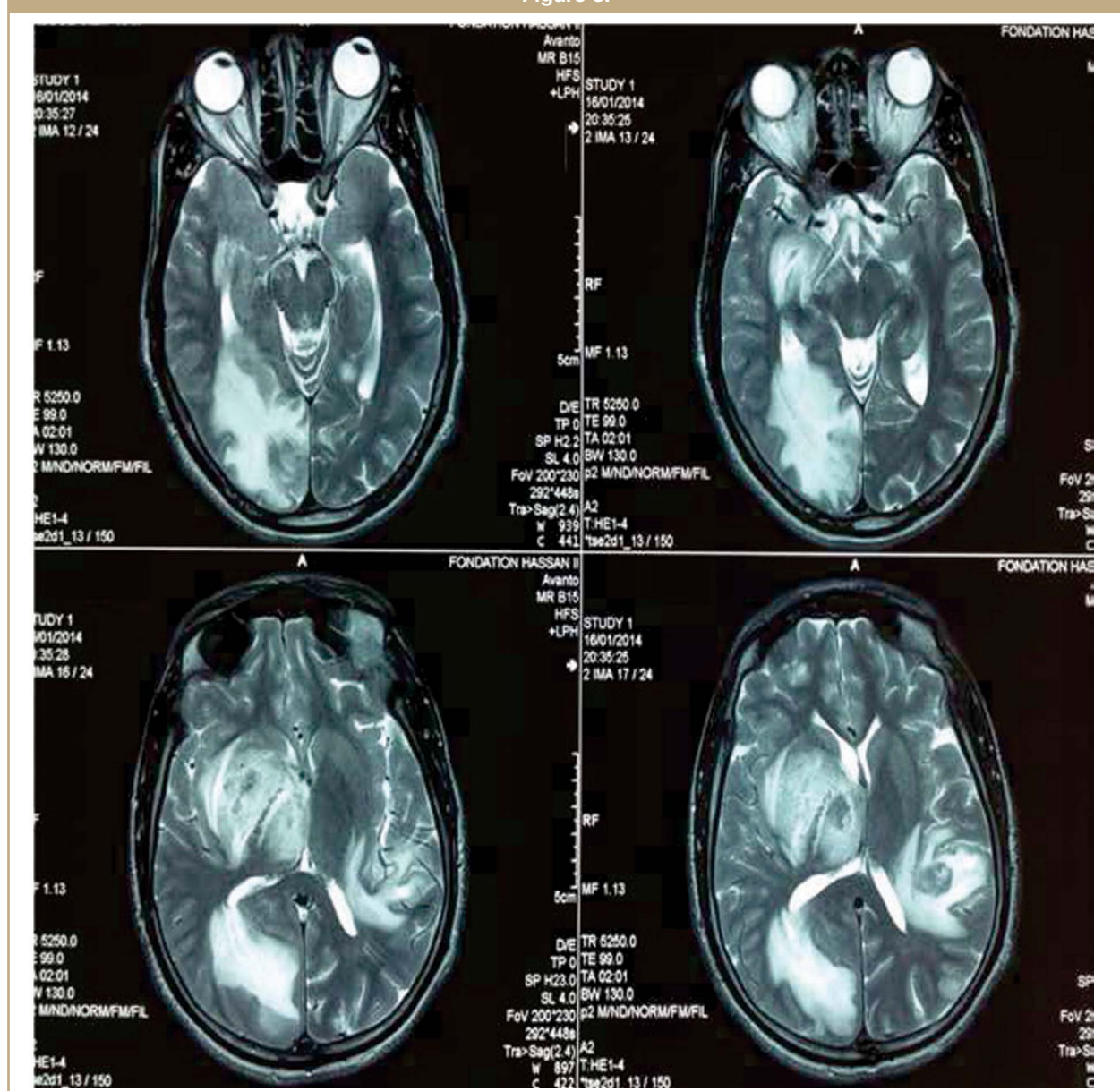
réalisée chez 4 patients et a montré un hyposignal T1 avec ou sans prise de gadolinium, un hypersignal T2 et flair (*figures 2 et 3*). Le FO a été réalisé chez 11 cas, et il était anormal dans un seul cas en montrant un œdème papillaire bilatéral stade II sans foyers infectieux ni de vascularite. La biopsie stéréotaxique n'a été réalisée que chez deux patients et a permis de confirmer le diagnostic de toxoplasmose dans les deux cas en montrant des lésions d'encéphalite nécrosante avec gliose réactionnelle associée à la présence de kystes toxoplasmiques. Le cotrimoxazole (sulfaméthoxazole 800 mg- thriméthoprime 160 mg) a été utilisé chez tous les patients (2 comprimés trois fois par jour) sauf un qui a reçu le traitement de référence la pyriméthamine et la sulfadiazine (pyriméthamine : 100 mg le premier jour puis 50 mg par jour - sulfadiazine 4 g par jour). Trois patients ont présenté une toxicité hématologique au cotrimoxazole à type de leucopénie et de pancytopénie, et un patient a présenté une leucopénie due au Sulfadiazine- Pyriméthamine. Ces effets secondaires hématologiques ont été corrigés par l'administration de l'acide folinique. La durée moyenne de traitement était de 8 semaines en excluant les patients décédés et les perdus de vue. La corticothérapie a été aussi administrée chez 16 patients devant des signes d'hypertension intracrânienne. La trithérapie a été démarrée chez 15 patients dans un délai moyen de 3 semaines par rapport au traitement de la toxoplasmose cérébrale. Une amélioration clinique a été obtenue dans 66 % des cas et le décès est survenu dans 6 cas dont quatre suite à un syndrome d'hypertension intracrânienne avec engagement cérébral, un par

le syndrome de restauration immunitaire et un par le syndrome de Steven-Johnson secondaire à la prise de l'efavirenz. La prophylaxie secondaire a été démarrée chez 12 patients (57 %) ayant évolué favorablement sous traitement d'attaque à base de cotrimoxazole pour une durée qui variait dans notre étude entre 1 et 26 mois jusqu'à la restauration immunitaire.

4. Discussion

La prévalence de la toxoplasmose cérébrale au cours du sida chez les patients de notre étude (4,63 %) est proche de celle trouvée par Avode [2] au Bénin (2,8 %) et Goïta à Mali (3,5 %) [3]. L'âge moyen de 38 ans concordait avec la littérature du fait que le VIH atteint plus la population jeune [2]. Les manifestations cliniques retrouvées dans notre étude ont été retrouvées mais à des proportions variables dans de nombreuses séries [3,4,5] (*tableau IV*). Classiquement la toxoplasmose cérébrale se présente à la tomodensitométrie sous la forme d'images en cocarde [6], mais ce type d'image même s'il est caractéristique n'est pas spécifique de la toxoplasmose cérébrale [7]. Goïta et al. ont rapporté ces images dans 56,25 % [8] et Jose et al dans 77 % des cas [6]. L'imagerie par résonance magnétique n'a pu être réalisée initialement que chez 4 patients, pourtant de nombreuses études ont montré la sensibilité de l'IRM en termes de toxoplasmose cérébrale pour détecter plus de lésions cérébrales et explorer mieux le tronc cérébral et la fosse cérébrale postérieure [8]. L'immunodépression profonde dans notre

Figure 3.



IRM cérébrale Séquence T2 (coupe axiale) : plusieurs lésions sous corticales bilatérales en hypersignal important avec un effet de masse et début d'engagement sous factoriel.

Tableau IV - Les manifestations cliniques de la toxoplasmose cérébrale.

Signes cliniques	K.Gruntzky (4) (Togo) (%)	Goïta et al (3) (Mali) (%)	Alid (%) (5) (Maroc- Casablanca)	Notre étude (%)
Syndrome de déficit neurologique focalisé	69,56	73,07	76	80,95
Syndrome d'hypertension intracrânienne	43,47	69,2	47	42,85
Crises convulsives	73,91	57,69	----	38,09
Syndrome méningé	-----	15,40	11	4,76
Syndrome infectieux	4,34	-	64	28,57
Trouble de conscience	21,73	30,80	28	38,09
Trouble psychiatrique	4,34	3,84	11	9,5
Syndrome cérébelleux	-----	-	----	4,76

série (taux moyen de CD4 : 55,78 cellules/mm³ et 85 % des patients avec un taux de CD4 < 100 cellules/mm³) est comparable à la littérature qui rapporte que la toxoplasmose cérébrale survient le plus souvent lorsque le taux de CD4 est inférieur à 100 cellules/mm³ [2,7]. La biopsie stéréotaxique dont les indications sont limitées aux incertitudes diagnostiques [9] a été réalisée chez deux patients et montrant des lésions d'encéphalite nécrosante avec gliose réactionnelle avec présence de corps toxoplasmiques ce qui concorde avec la littérature [4]. Bien que l'association Sulfadiazine-Pyriméthamine soit le traitement de référence de la toxoplasmose cérébrale nous ne l'avons utilisé que chez un seul patient, vu qu'il n'est pas commercialisé dans notre pays. En effet, l'adjonction de l'acide folinique à la posologie de 10 à 25 mg/j est souhaitable pour limiter les effets hématologiques liés à la carence en folates induite par l'association pyriméthamine-sulfadiazine ou la sulfaméthoxazole contenu dans le cotrimoxazole [10]. La trithérapie a été démarrée dans un délai moyen de 3 semaines par rapport au traitement antitoxoplasmique alors que le rapport de Morlat recommande dans les deux semaines [11] afin d'éviter la survenue du syndrome de restauration

immunitaire. L'amélioration clinique avec régression des symptômes et des signes physiques a été observée chez 14 patients (66 %). Ce taux de guérison est légèrement loin de celui du traitement de référence (80-90 %) [6] ce qui peut être expliqué en partie par le stade clinique avancé de nos patients et avec l'association d'autres infections opportunistes d'autres parties.

5. Conclusion

Malgré le polymorphisme clinique de la toxoplasmose cérébrale au cours de l'infection à VIH, on a constaté que le moindre signe neurologique chez un patient infecté par le VIH devrait la faire évoquer, car elle est traitable malgré la possibilité de séquelles cognitives considérables. La prévention primaire par le cotrimoxazole chez les patients ayant un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 200 cellules/mm³, permet d'améliorer le pronostic et la survie de ces patients.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Millogo A, Ki-Zerbo GA, Traore W, Sawadogo AB, Ouedraogo I, Peghini M. Sérologie toxoplasmique chez les patients infectés par le VIH et suspects de toxoplasmose cérébrale au Centre hospitalier de Bobo- Dioulasso (Burkina Faso). Bull Soc Pathol Exot 2000, 93 (1): 17-9
- [2] Avoide DG, Adjien C, Houinato D, Souhain M, Adoukonou T. Toxoplasmose cérébrale en milieu hospitalier à Cotonou (Benin). A J N S 2005, 24 (2): 48-55
- [3] Goita D, Karambe M, Demble J.P, Sogoba D, Sidibe A.F, Diaby S, et al. Toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA dans le service des maladies infectieuses du CHU du point-g, bamako-mali. Mali medical 2012, 27 (1):47-50.
- [4] Grunitzky K, Balogou A K, Vimegnon Y A, Agbo K, Sadko A, Prince-David M. Toxoplasmose cérébrale en milieu hospitalier à Lomé (togo). Bull Soc Path Ex 1995, 88, 22- 3.
- [5] Alid R, La toxoplasmose cérébrale au cours du SIDA chez l'adulte. Thèse méd, Casablanca 1997, n° 226 p 18)
- [6] Jose EV, Adrian VH, Augusto C, Penalva DO, Rafi FD, Silas PB, et al. Cerebral toxoplasmosis in HIV-Positive patients in Brazil: clinical features and predictors of treatment response in the HAART Era. AIDS patient care and STDS 2005, 19, (10):626-34.
- [7] Kadio K, Ouattara B, Kra O, Sanogo S, Yao H, Niamkey E K. Toxoplasmose cérébrale chez le sidéen dans le service de médecine interne du CHU de Treichville. Med Afr Noire 2007, 54 (1): 13-6.
- [8] Leport C, Remington J S. Toxoplasmose au cours du SIDA. Presse Med 1992;21: 1165-71.
- [9] Hofman P, Michils J F, Saint-Paul M C, Toxoplasmose au cours du SIDA. Ann Pathol 1993,13:233-40.
- [10] Morlat P H, Ragnaud J M, Gin H. La toxoplasmose cérébrale au cours du Sida. Méd Mal Infect 1993; 23: 183-9.
- [11] Morlat P, Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH. Actualisation 2014 du rapport 2013, sous la direction du Pr Philippe Morlat et sous l'égide du CNS et de l'ANRS, p 276. Téléchargeable sur le site: <http://cns.sante.fr/dossiers/prise-en-charge-des-pvvi-h-actualisation-2014-du-rapport-2013>

DROIT DES CONTRATS

Réforme du droit des contrats : la formation du contrat

Nous continuons l'étude de l'ordonnance, réformant les contrats, commencée dans les précédents numéros de RFL, par l'analyse des conditions de formation du contrat.

L'ordonnance du 10 février 2016* définit désormais les négociations, l'offre et l'acceptation ainsi que les contrats préparatoires, qui n'existaient pas dans le Code civil, le processus de conclusion du contrat n'étant jusqu'à présent que partiellement encadré et défini par la jurisprudence.

La conclusion du contrat

Tout ce qui va être abordé ci-dessous est essentiel dans les pourparlers en vue de la fusion des sociétés exploitant des LBM.

La période précédant la conclusion du contrat fait ainsi son apparition dans le Code civil sous la forme de trois articles.

Les négociateurs sont libres à condition de rester de bonne foi

L'initiative, le déroulement et la rupture des négociations précontractuelles sont libres ; ils doivent satisfaire aux exigences de la bonne foi sans que les parties puissent y déroger.

En cas de faute commise dans les négociations, la réparation du préjudice qui en résulte ne peut avoir pour objet de compenser la perte des avantages attendus du contrat non conclu. La limite à la réparation du dommage dégagée par la jurisprudence en cas de rupture fautive des pourparlers est ainsi reprise.

Le devoir d'information précontractuelle est généralisé

Jusqu'à présent, il n'existait pas de règles légales générales imposant une obligation précontractuelle d'information, sauf pour des matières spécifiques telles que le droit de la consommation. Les tribunaux mettaient à la charge de certains cocontractants une obligation d'information, parfois appelée obligation de mise en garde ou de conseil.

L'ordonnance généralise l'obligation précontractuelle d'information. Voici les grandes lignes de cette obligation :

L'article 1112-1, al. 1 dispose que celle des parties qui connaît une information dont l'importance est déterminante pour le consentement de l'autre doit l'en informer dès lors que, légitimement, cette dernière ignore cette information ou fait confiance à son cocontractant. Il en résulte que :

- l'obligation d'information n'est mise qu'à la charge de la partie qui détient une information déterminante du consentement de son cocontractant ;
- l'information n'est due qu'à l'égard du cocontractant qui, légitimement, l'ignore ou fait confiance à l'autre partie.



© Trueffelpix/fotolia.com

Une partie ne pourra donc pas se prévaloir de son ignorance légitime si elle a commis une faute, tel un mensonge, ayant empêché le détenteur de l'information de mesurer qu'il était tenu de l'informer ou si elle connaît les risques attachés à l'exécution de la prestation due.

Le cocontractant qui prétend qu'une information lui était due doit prouver que l'autre partie la lui devait, à charge pour cette autre partie de prouver qu'elle l'a fournie.

Le défaut d'information est sanctionné par une action en responsabilité. En outre, s'il constitue un vice du consentement, le contrat peut être annulé.

Ce texte est d'ordre public, les parties ne pouvant ni limiter ni exclure le devoir d'information.

Les négociateurs ont une obligation de confidentialité

Celui qui utilise ou divulgue sans autorisation une information confidentielle obtenue à l'occasion des négociations engage sa responsabilité dans les conditions du droit commun.

Ce principe s'applique même en l'absence de clause de confidentialité liant les parties à la négociation. Celles-ci peuvent avoir intérêt à prévoir une telle clause, notamment pour définir ce qu'elles considèrent comme une information confidentielle. Une clause peut par ailleurs limiter ou écarter l'obligation de confidentialité.

La responsabilité encourue est contractuelle ou délictuelle selon que l'utilisation ou la divulgation de l'information caractérise ou non la violation d'une clause de confidentialité.

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 74 - 75)

- | | | | |
|---------|------------|-------------|----------------|
| 1. A | 5. B, D, E | 9. A, B, D | 13. A, D, E |
| 2. B, E | 6. A | 10. C | 14. B, C |
| 3. A, C | 7. C | 11. A, B, D | 15. A, B, D, E |
| 4. B, C | 8. D | 12. C, D | 16. E |
| | | | 17. B, C |



© lana_kolesnikova/Fotolia.com

L'offre et l'acceptation

Les articles 1113 à 1122 introduisent dans le Code le régime de l'offre de contracter et de son acceptation. Ils reprennent certaines solutions jurisprudentielles : exigence d'une offre et d'une acceptation manifestant la volonté de son auteur de s'engager ; irrévocabilité de l'offre jusqu'à l'expiration du délai fixé par son auteur, ou, à défaut, jusqu'à l'issue d'un délai raisonnable ; limitation des cas où le silence peut valoir acceptation.

Sont aussi codifiés les principes dégagés par les tribunaux à propos des conditions générales : opposabilité des seules conditions portées à la connaissance du contractant et acceptées par lui ; inefficacité des conditions contradictoires et primauté des conditions particulières sur les conditions générales.

Mais l'ordonnance innove sur d'autres aspects. Ainsi, le contrat est parfait dès que l'acceptation parvient à l'offrant et il est réputé conclu au lieu où l'acceptation est parvenue. Est donc privilégiée la théorie dite de la réception alors que les tribunaux avaient majoritairement fixé la conclusion du contrat au moment et au lieu où l'acceptation était émise. Toutefois, les parties peuvent retenir une solution différente.

L'article 1222 introduit le délai de réflexion ou de rétractation en droit commun du contrat, qui n'apparaissait jusqu'alors que dans des textes spécifiques à certains contrats conclus par un non professionnel avec un professionnel.

L'entrée de cet article dans le Code civil permet de rappeler qu'un contrat peut accorder un tel délai à une partie, sans que soit remis en cause le caractère impératif des délais de réflexion et de rétractation prévus par les lois spéciales.

Reconnaissance de certains avant-contrats

Très usités par les praticiens, et les LBM, et donnant lieu à une jurisprudence abondante, le pacte de préférence et la promesse unilatérale sont désormais définis, assez classiquement, et leur régime pour partie fixé par les nouveaux articles 1123 et 1124 du Code civil.

Pacte de préférence

Le nouvel article 1123 donne une définition assez plate du pacte de préférence : contrat par lequel une partie s'engage à proposer prioritairement à son bénéficiaire de traiter avec lui pour le cas où elle déciderait de contracter. Il est muet sur les conditions de validité du pacte.

L'article 1123 confirme les sanctions que les tribunaux appliquaient en cas de conclusion d'un contrat avec un tiers en violation du pacte de préférence : le bénéficiaire du pacte peut demander la réparation du préjudice subi ou, si le tiers connaissait l'existence du pacte et l'intention du bénéficiaire de s'en prévaloir, la nullité du contrat ou à être substitué au tiers dans le contrat conclu.

Plus innovant et permettant de prévenir une contestation, le nouveau texte autorise le tiers à demander par écrit au bénéficiaire de confirmer, dans un délai raisonnable, l'existence d'un pacte et son intention de s'en prévaloir ; l'écrit mentionne qu'à défaut de réponse dans ce délai, le bénéficiaire du pacte ne pourra plus solliciter sa substitution au contrat conclu avec le tiers ou la nullité du contrat.

Promesse unilatérale

Après avoir défini classiquement la promesse unilatérale (contrat par lequel une partie, le promettant, accorde à l'autre, le bénéficiaire, le droit d'opter pour la conclusion d'un contrat dont les éléments essentiels sont déterminés, et pour la formation duquel ne manque que le consentement du bénéficiaire), le nouvel article 1124 prend le contre-pied de la solution jusque-là admise – qui était très critiquée – concernant la faculté pour le promettant de se rétracter : pour les promesses conclues à compter du 1^{er} octobre 2016, la révocation de la promesse unilatérale pendant le temps laissé au bénéficiaire pour lever l'option n'empêchera pas la formation du contrat promis.

Les tribunaux refusaient au contraire dans cette hypothèse d'ordonner la réalisation forcée du contrat.

Par ailleurs, le contrat conclu en violation de la promesse unilatérale avec un tiers qui en connaissait l'existence est nul.

Le consentement des parties

Le contrat peut être annulé pour abus de dépendance

L'ordonnance du 10 février 2016 introduit dans le Code civil une nouvelle notion : l'abus de dépendance, qui devient un cas de violence justifiant l'annulation du contrat pour vice du consentement.

Aux termes du nouvel article 1143, il y a violence lorsqu'une partie, abusant de l'état de dépendance dans lequel se trouve son cocontractant, obtient de lui un engagement qu'il n'aurait pas souscrit en l'absence d'une telle contrainte et en tire un avantage manifestement excessif.

Ce nouvel article ne fait pas de la recherche d'un profit par l'auteur de la violence et des conséquences qui en résultent pour la victime une condition de la sanction de l'abus de faiblesse. Mais ces conditions sont incluses dans celles de l'abus commis, l'abus supposant un profit illégitime et l'intention de nuire au cocontractant ou du moins l'indifférence à ses intérêts.

Un régime de la représentation introduit au sein des règles applicables à tous les contrats

Partant du constat que le Code civil de 1804 ne comportait que des dispositions éparpillées sur les diverses formes de la représentation, en particulier le mandat, les auteurs de la réforme ont défini aux nouveaux articles 1153 à 1161 du Code civil un régime général de la représentation, quelle que soit sa source, conventionnelle, légale ou judiciaire.

Les textes sur le mandat ne sont pas supprimés. Il convient donc pour connaître l'ensemble du régime sur le mandat de combiner les règles des nouveaux avec celles des anciens.

Le représentant légal, judiciaire ou conventionnel n'est fondé à agir que dans la limite des pouvoirs qui lui ont été conférés. Il ne peut accomplir que des actes conservatoires et d'administration lorsque son pouvoir est défini en termes généraux. Ce texte est identique à ce qui est prévu pour le mandat. Il ajoute une précision inédite : lorsque le pouvoir est spécialement déterminé, le représentant ne peut accomplir que les actes pour lesquels il est habilité et ceux qui en sont l'accessoire.

L'acte accompli par le représentant sans pouvoir ou au-delà de ses pouvoirs est inopposable au représenté. Le représenté n'est donc pas tenu d'exécuter l'acte ainsi accompli par le représentant. En matière de mandat, les tribunaux retenaient au contraire la nullité de l'acte. Cette jurisprudence est donc caduque.

Le texte prévoit une limite à cette inopposabilité : l'acte peut être validé si le tiers contractant a légitimement cru en la réalité des pouvoirs du représentant, notamment en raison du comportement ou des déclarations du représenté. La notion de mandat apparent qui est une création jurisprudentielle est donc intégrée dans le Code. Pour les tribunaux, l'existence de la croyance légitime du tiers suppose que les circonstances autorisaient les tiers à ne pas vérifier la réalité et les limites des pouvoirs du prétendu mandataire. Les circonstances prises en compte par les juges pour établir la croyance légitime du tiers sont appréciées en fonction d'un faisceau d'indices, parmi lesquels la nature du contrat, le caractère régulier et durable des rela-

tions antérieures des parties, les conditions de l'établissement du contrat en question, la qualité ou l'attitude du mandant, du mandataire ou du tiers qui s'est laissé abuser. L'article 1156, al. 1 ne reprend expressément comme circonstance que le comportement et les déclarations du représenté. Néanmoins, cette liste n'est pas limitative. Il appartiendra donc aux tribunaux de déterminer si les solutions jurisprudentielles retenues jusque-là à propos du mandat pour justifier la croyance légitime continuent de s'appliquer.

Totalement novateur, l'article 1158 ouvre la possibilité à un tiers d'exercer une « action interrogatoire ». Elle est ouverte au tiers ayant un doute sur l'étendue des pouvoirs du représentant conventionnel d'un contractant pour conclure un acte ; il peut demander au représenté de lui confirmer que le représentant est habilité à conclure cet acte.

Cette disposition s'appliquera le 1^{er} octobre 2016 à tous les contrats conclus avant et après cette date.

Le représentant ne peut ni agir pour le compte des deux parties ni contracter pour son propre compte avec le représenté. Il n'en va différemment que si une disposition légale autorise un tel acte ou si le représenté l'a autorisé ou ratifié.

Jusqu'à présent, les tribunaux retenaient la solution contraire à propos de la double représentation et imposaient seulement au mandataire d'être attentif à ne pas faire prévaloir les intérêts d'un mandant au préjudice de l'autre. La nouvelle limitation contraindra les groupes de sociétés à revoir les délégations de pouvoirs accordées jusqu'alors.

L'acte accompli par le représentant en méconnaissance des dispositions de l'article 1161, al. 1 est nul sauf si la loi l'autorise ou que le représenté l'a autorisé ou ratifié.

Les LBM devront donc redoubler d'attention quand ils désigneront un représentant, notamment dans les groupes de sociétés.

Nous continuerons l'étude du nouveau droit des contrats dans le prochain numéro de RFL. ■■

*Ord. 2016-131 du 10 février 2016 ; JO du 11 février texte n° 26



TEXTES JURIDIQUES

Ministère des Affaires sociales et de la Santé
(JO du 25/10/2016)

Décret n° 2016-1430 du 24 octobre 2016 relatif aux modalités d'accréditation des laboratoires de biologie médicale

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033294130&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 5/10/2016)

Décision du 9 mai 2016 portant renouvellement de l'autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189653&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 mai 2016 portant autorisation d'importation de cellules embryonnaires à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-6 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189664&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 mai 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189669&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 mai 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur l'embryon en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189680&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 mai 2016 portant renouvellement d'autorisation de protocole de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189693&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 9 mai 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189703&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 20 mai 2016 portant renouvellement de l'autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189714&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 20 mai 2016 portant renouvellement de l'autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189725&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 20 mai 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033189736&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 6/10/2016)

Décision du 23 juin 2016 portant autorisation de conservation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033193094&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 23 juin 2016 portant autorisation d'importation de cellules embryonnaires à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-6 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033193105&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 23 juin 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033193110&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 23 juin 2016 portant autorisation de protocole de recherche sur l'embryon humain en application des dispositions de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033193121&dateTexte=&categorieLien=id>

Décision du 23 juin 2016 portant autorisation d'exportation de cellules souches embryonnaires humaines à des fins de recherche en application des dispositions de l'article L. 2151-6 du code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033193134&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 7/10/2016)

Décret n° 2016-1317 du 5 octobre 2016 relatif à l'attribution de missions dans le cadre du développement professionnel continu des professions de santé en l'absence de conseils nationaux professionnels

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033197618&dateTexte=&categorieLien=id> [Concerne le DPC des professions de santé]

ÉCHOS PARLEMENTAIRES

La France dans le Fonds mondial contre sida, tuberculose et paludisme

Question de Nelly Tocqueville, sénatrice, au secrétariat d'État auprès du ministère des Affaires étrangères et du développement international sur l'engagement de la France dans le Fonds mondial de lutte contre le sida, la tuberculose et le paludisme. La France doit concrétiser son engagement en faveur de la santé mondiale, notamment en y conservant son rôle moteur. Ces pandémies causent 2,7 millions de décès par an, mais il est envisageable de prévoir leur éradication d'ici à 2030, objectif que la communauté internationale s'est fixé comme objectif de développement durable. Cette ambition restera vaine si le Fonds mondial n'est pas financé pour la période 2017-2019 : c'est l'outil le plus puissant dans la lutte contre ces maladies : il a déjà permis de sauver 17 millions de vies dans le monde et prévoit d'en sauver encore 8 millions d'ici à 2019. La France est actuellement son deuxième contributeur, à hauteur de 1,08 milliard d'euros sur 3 ans. La France va-t-elle confirmer une nouvelle contribution d'au moins 1,08 milliard d'euros pour la période 2017-2019 ?



Réponse : le ministère des Affaires étrangères et du Développement international (MAEDI) se félicite des résultats obtenus par le Fonds mondial de lutte contre le sida, la tuberculose et le paludisme dans la lutte contre ces 3 pandémies. L'action du Fonds mondial a permis des succès qui n'auraient pas été possibles par des actions en ordre dispersé. La lutte doit être poursuivie en vue de leur éradication de d'ici 2030, conforme aux Objectifs de développement durable (ODD). C'est pourquoi la France, deuxième contributeur du Fonds mondial, lui reste fortement engagée, politiquement et financièrement. Dans cette perspective, elle a annoncé le 25 juin 2016 le maintien de sa contribution à hauteur de 1,08 milliard d'euros pour 2017-2019, soit 360 millions d'euros par an. La conférence de *reconstitution des ressources* du Fonds mondial devait se tenir à Montréal en septembre 2016, le secrétariat d'État devant y réitérer le soutien de la France pour cette période. ■■

J.-M. M.

© christian vinctes/fotolia.com



Fièvre jaune en Guyane : vaccination de rappel ou non ?

La question est posée au ministère de la Santé par Antoine Karam, sénateur de la Guyane. Il explique que depuis 1967, la vaccination contre la fièvre jaune est obligatoire chez les enfants dès 1 an et les adultes résidant en Guyane ou y séjournant. Jusqu'à présent, un rappel est nécessaire tous les 10 ans pour maintenir une protection efficace. Or l'OMS a déclaré en juillet 2013 qu'une dose unique de vaccin antiamarile suffit à conférer une immunité pour toute la vie, une dose de rappel n'étant plus nécessaire. Dans un premier avis du 24 janvier 2014, le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a soutenu la vaccination de rappel en Guyane, indiquant que sa décision serait reconsidérée si le Règlement sanitaire international était modifié. Cette modification, est survenue en mai 2014, avec l'adoption d'un amendement par l'Assemblée mondiale de la santé, stipulant que la durée de protection conférée par les vaccins de la fièvre jaune agréés par l'OMS était étendue à la vie entière et que la validité du certificat international de vaccination peut donc être prolongée.

Dans un avis de 2015, le HCSP a révisé sa position, prenant acte de la décision de l'OMS, et a indiqué que la prolongation à vie de la validité du certificat international de vaccination devait s'appliquer aux ressortissants français résidant ou désirant se rendre en Guyane. Une seconde dose de vaccin reste toutefois recommandée aux enfants vaccinés avant l'âge de 2 ans, aux femmes primo-vaccinées en cours de grossesse, aux sujets VIH-positifs et aux personnes immunodéprimées. L'obligation de vaccination contre la fièvre jaune en Guyane est souvent perçue par les professionnels et les organisations patronales comme un frein important au développement du tourisme, et plus largement de l'économie de la Guyane. La France envisage-t-elle de modifier la réglementation actuelle et selon quel calendrier ?

Réponse : toute démarche de prévention doit se fonder sur l'épidémiologie. Si la fièvre jaune n'a plus impliqué d'être humain en Guyane depuis 1999, c'est une épizootie, chez des primates de Guyane et même d'autres mammifères de forêt, par l'intermédiaire de moustiques spécifiques, circulation virale avérée. En ce sens, la Guyane demeure un territoire où persiste le risque de contracter la fièvre jaune, et si les cas humains ne sont plus observés, c'est vraisemblablement grâce à l'excellente couverture vaccinale de la population. La vaccination y est donc à la fois très pertinente tant sur un plan de protection individuelle et nécessaire que sur un plan de la santé publique puisque c'est une maladie potentiellement épidémique. Si la population vivant ou séjournant en Guyane n'était plus vaccinée, les conséquences pourraient en être terribles, et il faut rappeler qu'une épidémie de fièvre jaune urbaine frappe de grandes villes d'Afrique tropicale.

Cette vaccination étant et demeurant nécessaire, le législateur l'a rendue obligatoire. Les conditions pratiques de cette vaccination, qu'elle soit obligatoire ou pas, viennent d'être modifiées cette année dans le calendrier vaccinal national. Suivant la recommandation du HCSP et en accord avec l'avis de l'OMS, il a été décidé qu'en règle générale cette vaccination ne nécessitera plus de rappels décennaux, sauf certains cas particuliers liés à la situation des personnes au cours de leur première vaccination (âge, grossesse, déficit immunitaire) ou situation d'épidémie. Enfin il faut rappeler l'évolution récente du Règlement sanitaire international (RSI) concernant l'entrée en Guyane pour laquelle une seule vaccination contre la fièvre jaune est désormais nécessaire sans qu'il soit besoin d'attester de revaccination tous les 10 ans. Ce RSI n'est destiné qu'à éviter la propagation internationale des maladies transmissibles et ne présage aucunement des éventuelles recommandations de protection individuelle. La plupart des autres pays d'Amérique du Sud où la fièvre jaune est également présente n'ont pas jugé bon d'exiger cette vaccination à leurs frontières mais la recommandent pour certains territoires. ■■

J.-M. M.



© unlimit3dfoolia.com

Dépakine : on savait depuis longtemps

Le sénateur Olivier Cigolotti a interpellé la ministre de la Santé en séance publique sur ce qu'on appelle maintenant « l'affaire de la Dépakine », antiépileptique *au cœur d'un véritable scandale sanitaire*, tératogène, pour le fœtus, risque pourtant mentionné dans de nombreuses études scientifiques depuis 1982, affirme le parlementaire. Les familles sont regroupées au sein de l'Association d'aide aux parents d'enfants souffrant du syndrome de l'anti-convulsivant, (APESAC), qui ont obtenu l'apposition d'un pictogramme sur le conditionnement de la Dépakine et des autres médicaments tératogènes [ce qu'il avait demandé au ministère, réticent], et l'ouverture d'un fonds d'indemnisation. « *Je souhaite tout de même dénoncer le fait que l'ANSM ait recours aux laboratoires [pharmaceutiques] pour faire son travail d'information portant [le logo] sur les produits de santé* ». Nous avons la chance, ajoute-t-il, de posséder un organisme public, le Centre de référence sur les agents tératogènes (CRAT), qui dresse la liste de l'ensemble des molécules à risques. Faire apposer, par arrêté, le logo que les familles réclament sur l'ensemble de ces molécules permet d'éviter des récives.

Réponse de la ministre de la Santé : « *Nous travaillons avec l'APESAC pour que les familles touchées par ce drame de la Dépakine soient justement et rapidement indemnisées. Je le dis sans difficulté et sans ambages, la Dépakine est un médicament nécessaire, pour cette raison, nous ne pouvons ni l'interdire ni le retirer du marché. Toutefois, les femmes en âge d'avoir des enfants doivent être informées qu'elles s'exposent à des risques en le prenant* ».

Les rapports, tel celui de l'IGAS, ont montré que l'information due aux femmes et aux familles n'avait pas été apportée durant la décennie écoulée, d'où la responsabilité de l'État, et d'où un fonds d'indemnisation des victimes. L'État se retournera, le cas échéant, vers d'autres responsables. Ce sera la justice qui, à la fin, déterminera les responsabilités autres que celles de l'État, par exemple celles du laboratoire ou d'autres acteurs, se défend la ministre. ■■

J.-M. M.

Où en est la réforme hospitalière ?

Le sénateur Alain Milon s'est inquiété cet été auprès du ministère de la Santé du retard de transmission des éléments de la réforme des soins de suite et de réadaptation. Les soins de suite et de réadaptation interviennent dans la rééducation d'un patient traité. Cette activité est donc essentielle pour quelque 950 000 patients accueillis chaque année dans les services publics et privés, qui les dispensent. Une réforme est attendue et souhaitée par les professionnels du secteur. Le Parlement a voté le principe en décembre dernier d'une réforme du financement, dont la mise en place nécessitera de lourdes transformations des établissements de santé. Or ces établissements, surtout ceux du privé, s'inquiètent. Il est en effet particulièrement difficile pour ces établissements, *qui reçoivent des indications changeantes d'une semaine sur l'autre*, de mesurer l'impact d'une telle réforme, alors qu'elle doit s'appliquer en mars 2017. Il existe certains droits. C'est douteux sur la faisabilité de la réforme. L'évolution de la tarification des établissements de santé est une nécessité, personne ne s'y oppose, mais elle doit être conduite de façon transparente dans la concertation, sous peine d'oppositions entre public et privé, voire d'échec de la réforme. La question est : qu'attend le ministère pour transmettre aux établissements concernés les éléments précis de cette réforme, afin de leur donner plus de lisibilité, et ne pas déstabiliser l'organisation sanitaire ni pénaliser les patients ? Réponse : nous avons à traiter de la mise en place de la réforme, *annoncée depuis maintenant assez longtemps*. Des discussions sont engagées avec les services du ministère, en particulier la direction générale de l'offre de soins (DGOS), pour parvenir à identifier le bon dispositif de financement des établissements pratiquant des activités de soins de suite et de réadaptation.

Promesse : cette réforme sera mise en place dans les délais attendus. Elle est nécessaire, ne serait-ce que sur le plan de l'équité entre les établissements publics et privés. Tous les éléments d'information attendus par les établissements de soins de suite et de réadaptation seront transmis... En outre, le ministère sera très attentif aux conditions de mise en œuvre de la réforme pour ne pas déstabiliser (sic) les établissements privés.

Cette réponse n'a pas satisfait le parlementaire, jugeant difficile pour les responsables des établissements de soins de suite et de réadaptation de comprendre les idées développées par ce ministère sur la facturation possible de ces soins, d'autant que lesdits établissements ont déjà subi, depuis 2013, une baisse tarifaire cumulée de 6 %. Cette difficulté met les établissements privés en danger de survie et risque de priver de soins les 350 000 malades qui, jusqu'à présent, en bénéficiaient. ■■

J.-M. M.



Maladie cœliaque, problème de santé publique

Quelle est la position du ministère de la Santé quant à la mise en œuvre d'une politique de santé publique spécifique pour la prévention, le dépistage et la prise en charge de la maladie cœliaque, demande le sénateur Michel Fontaine. Il appelle l'attention du ministère sur la maladie cœliaque, cette pathologie, plus connue sous le nom d'intolérance au gluten, qui est l'une des maladies digestives les plus fréquentes en Europe et en France (?) : elle toucherait une personne sur cent.

Malgré les progrès médicaux, cette maladie *reste peu diagnostiquée* (sic).

La réponse ministérielle rétablit la réalité épidémiologique : selon les études disponibles, la prévalence régionale de la maladie varierait de 0,1 % à 1 % de la population.

La MC est une entéropathie inflammatoire chronique, auto-immune, provoquée par un antigène alimentaire, ici la gliadine du gluten. L'intolérance au gluten peut se manifester à des périodes différentes de la vie, parfois chez le nourrisson peu après l'introduction de l'alimentation diversifiée, et généralement à l'âge adulte. La présentation clinique de la maladie est très variable, allant de la forme totalement asymptomatique à la malnutrition sévère, en passant par des plaintes imprécises, digestives ou non digestives. Les manifestations sont principalement douleur abdominale, diarrhée chronique, amaigrissement, pathologies osseuses, anémie, asthénie.

Le diagnostic biologique est un diagnostic d'élimination, qui repose sur une séquence d'examens (HAS, 2007) : recherche des anticorps IgA anti-transglutaminase, et des anticorps IgG anti-transglutaminase et anti-endomysium en cas de déficit en IgA. Les progrès du diagnostic biologique ont fait se raréfier la pratique, citée dans cette réponse ministérielle, de la biopsie de l'intestin grêle pour objectiver des lésions de la paroi du grêle [bordure en brosse ou villosités-NDLR], non spécifiques cependant de la MC et dont les résultats sont donc à interpréter en fonction de la clinique.

Chez l'enfant, cet acte [aujourd'hui plutôt déconseillé-NDLR] nécessite une anesthésie générale. Les recommandations internationales proposent la recherche diagnostique devant un tableau clinique évoquant une MC. Le seul traitement est la suppression des aliments contenant du gluten. *Il n'est cependant pas démontré que ce traitement apporte un bénéfice quelconque aux personnes asymptomatiques* (!), prétend le ministère.

Par ailleurs, la MC ne justifie pas un dépistage dans la population générale... ceci pour répondre à la notion de problème de santé publique évoqué par le parlementaire... Néanmoins, une actualisation des recommandations de bonne pratique clinique actuellement en vigueur a été demandée à la HAS. ■■

J.-M. M.

Que fait-on contre la violence à l'hôpital ?

Les actes de violence à l'hôpital sont récurrents. Pour le sénateur Bruno Gilles, s'adressant à la ministre des Affaires sociales et de la Santé au cours d'une séance publique, l'hôpital était il y a quelques années encore un sanctuaire républicain, un lieu d'accueil ouvert aux souffrances et aux détresses humaines. Or, en quelques années, on a vu s'y développer une violence à laquelle les personnels hospitaliers sont quotidiennement confrontés. En témoigne l'instauration d'un Observatoire national des violences en milieu de santé, l'ONVS, qui a rapporté 14 502 atteintes aux personnes et aux biens pour l'année 2014, touchant plus de 18 000 personnes !

Patients et accompagnants sont à l'origine de l'essentiel de ces actes de violence, généralement liés à la prise en charge, au temps d'attente, à l'absorption d'alcool ou de stupéfiants. Un acte de violence intervient en moyenne toutes les 30 minutes, accompagné d'injures, d'insultes, de provocations. Ces actes traduisent la banalisation de la violence, elle-même témoin du délitement des mœurs dans notre pays. Le parlementaire rend hommage au personnel hospitalier, dont le travail est déjà difficile et qui subit avec sang-froid et dignité cette évolution. Question : que comptez-vous faire pour mettre un terme à ces dérives inadmissibles ?

Personne ne cherche à banaliser la violence dans les hôpitaux, répond la ministre, qui dit avoir travaillé avec les fédérations et les établissements hospitaliers à un plan visant à faire face à la violence dans les hôpitaux. Exemple : en 2013 est lancé à Marseille un premier plan et les professionnels de santé victimes de violences sont incités à porter plainte, 1 million d'euros a été débloqué aux hôpitaux marseillais pour leur permettre de s'équiper face à la violence envers les soignants.

Depuis, quelque 530 conventions ont été signées entre des établissements de santé, la police et la justice. Cet appel au dépôt de plaintes explique en partie l'augmentation des actes signalés.

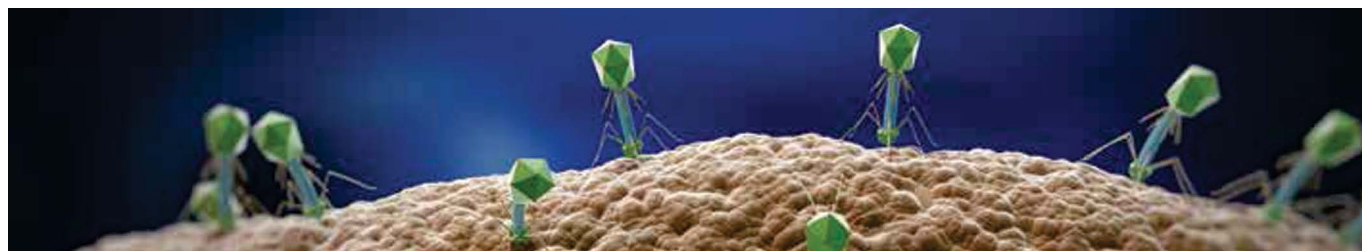
Avec le ministre de l'Intérieur, le ministère de la Santé a décidé que les hôpitaux les plus exposés bénéficieraient de patrouilles Vigipirate et Sentinelles, car, à côté des violences du quotidien, existe aussi un risque de violence terroriste. Chaque établissement devra élaborer un plan de sécurité intérieure, un plan de 75 millions d'euros sur 3 ans sera mis en place en 2017. Ce financement bénéficiera d'abord aux établissements jugés prioritaires.

En réponse, le parlementaire juge que ce plan ne répond que partiellement au problème : ce gouvernement songe à panser les plaies, mais jamais à soigner les causes. On ne réglera la question qu'avec une réponse globale. Or, aujourd'hui, deux chiffres-clés se contredisent : l'augmentation des actes de violence et la hausse des classements sans suite des plaintes déposées par les hôpitaux. ■■

J.-M. M.



© okalinichenko/fotolia.com



© SCIENCE PICTURE COMPANY / BSIP

Phagothérapie contre bactéries multirésistantes : *what else ?*

Restée méconnue pendant des décennies, reléguée dans l'ombre par l'avancée de l'antibiothérapie, la phagothérapie – utilisation des bactériophages dans le traitement des infections bactériennes – refait surface et est arrivée même à la connaissance des parlementaires. D'où la question de la sénatrice Maryvonne Blondin au ministère de la Santé à Noël 2015 sur l'avenir de la phagothérapie dans le traitement des infections à bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR).

Les services de santé nationaux et les instances européennes, alertent depuis plusieurs années sur le danger des BMR. Le traitement des infections par des bactériophages n'est pas encore autorisé en France, en raison des incertitudes concernant leurs *effets toxicologiques*. L'InVS estime dans une étude de septembre 2015 que près de 160 000 cas d'infections dues à un germe multirésistant sont recensés chaque année et 12 500 décès.

Des études scientifiques récemment publiées par l'INSERM ont montré l'efficacité de bactériophages au stade préclinique utilisés pour traiter l'antibiorésistance, par exemple, d'*E. coli*.

Tout comme l'étude préclinique *Phagoburn*, cofinancée à 75 % par l'Union européenne, menée à l'Hôpital d'instruction des armées Percy de Clamart, et dans d'autres hôpitaux européens. Plus de 200 patients atteints de brûlures sévères sont traités par phagothérapie, avec des résultats positifs. Les opportunités de recherche et de succès sont multiples dans le domaine des phages.

Question : *quid* d'un soutien financier à cette recherche dans la lutte contre les BMR et d'un cadre réglementaire permettant des traitements par ces biomédicaments.

S'étant renseigné, le ministère a répondu cet été, très longuement, sur ce sujet.

L'OMS a précisé, en 2015, que l'antibiorésistance constitue l'une des plus graves menaces pour la santé mondiale, que de nombreuses infections, comme la pneumonie, la tuberculose et la gonorrhée, sont devenues plus difficiles à traiter face à la perte d'efficacité des antibiotiques, et que la résistance aux antibiotiques est à l'origine d'hospitalisations prolongées et entraîne une augmentation des dépenses médicales et de la mortalité. La question de l'utilisation de phages contre des infections bactériennes multirésistantes est évoquée régulièrement, notamment du fait de la quasi-absence de nouvelles molécules antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique. Le Plan d'alerte sur les antibiotiques 2011-2016 recommande d'ailleurs d'identifier et d'évaluer des pistes alternatives à l'antibiothérapie.

Là où on utilise les phages

Depuis plusieurs décennies des infections bactériennes (pulmonaires, cutanées, digestives) sont traitées par bactériophages (phagothérapie) en Géorgie, en Pologne et en Russie. En Europe, les bactériophages n'ont pas pour l'instant de statut spécifique,

même si la définition de *médicament* est susceptible de leur être appliquée : l'EMA a estimé en 2004 que le bactériophage était un médicament. Des études sur des modèles animaux mimant des infections pulmonaires sont publiées, et l'utilisation possible des bactériophages en thérapeutique humaine a fait l'objet d'articles dans des revues.

Depuis 2013 l'essai clinique européen *Phagoburn* est en cours à l'Hôpital d'instruction des armées Percy (Clamart), avec comme objectif d'apporter des preuves sur l'efficacité de la phagothérapie. Cette étude est conduite en coopération avec l'ANSM, Swiss Medic, l'Agence fédérale belge des produits de santé et l'Agence européenne des médicaments (EMA) et avec l'aide de Pherecydes Pharma, qui dispose pour la France de 2 brevets pour l'usage thérapeutique des phages, et de Clean Cells, qui effectue la purification des phages pour l'étude.

Une phagorésistance ?

Il n'y a pas actuellement de recommandations européennes sur les bactériophages et l'expérience sur les phages acquise depuis plusieurs années dans certains pays (Europe de l'Est) ne peut à elle seule présenter un niveau d'efficacité et de sécurité suffisant répondant aux standards d'évaluation en vigueur dans l'Union européenne, souligne le ministère.

Selon l'ANSM (2013), « *les phages relèvent de la réglementation applicable aux médicaments* ». À ce titre, les industriels désireux de développer un tel traitement doivent être autorisés en tant qu'établissements pharmaceutiques et se conformer aux procédures de mise sur le marché des spécialités pharmaceutiques. Le produit doit notamment être développé selon les bonnes pratiques de fabrication (BPF).

Cependant, en l'état actuel des connaissances, ces virus sont immunogènes et les bactéries peuvent aussi, à l'instar des antibiotiques, *développer des résistances contre les phages*. Par ailleurs, il manque la publication d'essais randomisés contrôlés, sachant qu'il existe le plus souvent des études cliniques ponctuelles, au cas par cas. L'ensemble de ces éléments font qu'aujourd'hui, il n'est pas possible de généraliser l'utilisation des phages pour lutter contre les infections bactériennes.

Aussi, au vu de toutes ces interrogations, l'ANSM, par décision du 13 janvier 2016, a créé un *Comité scientifique temporaire Phagothérapie*, chargé de donner un avis quant aux situations cliniques pouvant justifier d'un accès précoce aux bactériophages et aux prérequis nécessaires pour une mise à disposition précoce dans le cadre d'autorisations temporaires d'utilisation (ATU) ou d'essais cliniques.

Cette instance prendra en compte les avancées de cette technique, notamment celles issues de l'étude *Phagoburn*, et pourra étudier les questions posées par cette thérapeutique. ■■

Jean-Marie Manus